

SÉRIE A, N° 1852

N° D'ORDRE

2719

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

MICHEL TAILLANDIER

1^{re} Thèse : Etude biochimique du latex de croton *Gossypifolius*. Contribution à l'étude de la structure chimique et de la physiologie des saponines et catéchines.

2^m^e Thèse : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le

1939, devant la Commission d'examen

28 MARS 1939

Président : MM. JAVILLIER,

Examineurs : $\left\{ \begin{array}{l} \text{E. AUBEL,} \\ \text{PLANTEFOL.} \end{array} \right.$

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME

1939

SÉRIE A, n° 1852

N° D'ORDRE

2719

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

MICHEL TAILLANDIER

1^{re} Thèse : Etude biochimique du latex de croton *Gossypifolius*. Contribution à l'étude de la structure chimique et de la physiologie des saponines et catéchines.

2^{me} Thèse : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 1939, devant la Commission d'examen

Président : MM. JAVILLIER,

Examineurs : { E. AUBEL,
PLANTEFOL.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME

1939

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire..... M. MOLLIARD.

Doyen..... G. MAURAIN, Professeur, Physique du Globe.

Professeurs honoraires.



H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
EMILE PICARD.
LÉON BRILLOUIN.
GUILLET.
PÉCHARD.
FREUNDLER.
AUGER.

BLAISE.
DANGEARD.
LESPIEAU.
MARCHIS.
VESSIOT.
PORTIER.
MOLLIARD.
LAPICQUE.

G. BERTRAND.
ABRAHAM.
Ch. FABRY.
LÉON BERTRAND.
WINTREBERT.
DUBOSQ.
BOHN.
RABAUD.

PROFESSEURS

M. CAULLERY..... T Zoologie (Evolution des êtres organisés).
N..... Chimie générale.
Emile BOREL..... T Calcul des probabilités et Physique mathém.
Jean PERRIN..... T Chimie physique.
E. CARTAN..... T Géométrie supérieure.
A. COTTON..... T Recherches physiques.
J. DRACH..... T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
Charles PÉREZ..... T Zoologie.
M. GUICHARD..... T Analyse et mesures chimiques.
Paul MONTEL..... T Théorie des fonctions et Théorie des transformations.
L. BLARINGHEM .. T Botanique.
G. JULIA..... T Mécanique analytique et Mécanique céleste.
C. MAUGUIN..... T Minéralogie.
A. MICHEL-LÉVY .. T Pétrographie.
H. BÉNARD..... T Mécanique expérimentale des fluides.
A. DENJOY..... T Application de l'analyse à la Géométrie.
L. LUTAUD..... T Géographie physique et géologie dynamique.
Eugène BLOCH..... T Physique.
G BRUHAT..... T Physique théorique et physique céleste.
E. DARMOIS..... T Enseignement de Physique.
A. DEBIERNE..... T Physique Générale et Radioactivité.
A. DUFOUR..... T Physique (P.C.B.).
L. DUNOYER..... T Optique appliquée.
A. GUILLIERMOND. T Botanique.
M. JAVILLIER..... T Chimie biologique.
ROBERT LÉVY..... T Physiologie comparée.
F. PICARD..... Zoologie (Evolution des êtres organisés).
Henri VILLAT..... T Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB..... T Géologie.
P. PASCAL..... T Chimie générale.
M. FRÉCHET..... T Calcul différentiel et Calcul intégral.
E. ESCLANGON..... T Astronomie.
M^{me} RAMART-LUCAS. T Chimie organique.
H. BÉGHIN..... T Mécanique physique et expérimentale.

FOCH..... Mécanique expérimentale des fluides.
PAUTHENIER..... Physique (P.C.B.).
DE BROGLIE..... T Théories physiques.
CHRÉTIEN..... Optique appliquée.
P. JOB..... Chimie générale.
LABROUSTE..... Physique du Globe.
PRENANT..... T Anatomie et Histologie comparées.
VILLEY..... Mécanique physique et expérimentale.
COMBES..... T Physiologie végétale.
GARNIER..... T Mathématiques générales.
PÉRÈS..... Mécanique théorique des fluides.
HACKSPILL..... Chimie (P.C.B.).
LAUGIER..... T Physiologie générale.
TOUSSAINT..... Technique Aéronautique.
M. CURIE..... Physique (P.C.B.).
G. RIBAUD..... T Hautes températures.
CHAZY..... T Mécanique rationnelle.
GAULT..... Chimie (P.C.B.).
CROZE..... Recherches physiques.
DUPONT..... T Théories chimiques.
LANQUINE..... T Géologie structurale et géologie appliquée.
VALIRON..... Mathématiques générales.
BARRABÉ..... Géologie structurale et géologie appliquée.
MILLOT..... Biologie animale (P.C.B.).
F. PERRIN..... Théories physiques.
VAVON..... Chimie organique.
G. DARMOIS..... Calcul des probabilités et Physique mathém.
CHATTON..... T Biologie maritime.
AUBEL..... Chimie biologique.
Jacques BOURCART. Géographie physique et Géologie dynamique.
M^{me} JOLIOT-CURIE.. Physique générale et Radioactivité.
PLANTEFOL..... Biologie végét. (P.C.B.).
CABANNES..... Enseignement de Physique.
GRASSÉ..... Biologie anim. (P.C.B.).
PRÉVOST..... Chimie (P.C.B.).
BOULIGAND..... Mathématiques.

Secrétaire..... A. PACAUD.

Secrétaire honoraire..... D. TOMBECK

En hommage à :

MONSIEUR LE PROFESSEUR GABRIEL BERTRAND,
Membre de l'Institut.

MONSIEUR LE PROFESSEUR M. JAVILLIER,
Membre de l'Institut.

MONSIEUR LE PROFESSEUR BOUGAULT,
Membre de l'Académie de Médecine.

MONSIEUR LE PROFESSEUR TIFFENEAU,
Membre de l'Académie de Médecine.

A MA FAMILLE.

INTRODUCTION.

Nous avons entrepris l'étude d'une plante tropicale, et plus spécialement l'étude biochimique et physiologique de son latex.

Cette plante dénommée vulgairement « Targwa » prospère spécialement bien au sud du Mexique et au Costa-Rica. Dans ces pays elle est reconnue comme intéressante, en ce qui concerne sa morphologie, en ce qui concerne sa composition et spécialement la composition de son latex. En effet les tribus indiennes vivant sur les bords du Pacifique (région des Tropiques) au Costa-Rica, et les médecins de ces régions lui attribuent des propriétés remarquables.

La plante dénommée « Targwa » au Costa-Rica et sous les tropiques américains est plus exactement un Croton (1) ; si le bois et les feuilles ont des propriétés industrielles peu intéressantes, par contre il est facile d'obtenir par incision des branches ou du tronc de la plante adulte (à l'état de petit arbre) un latex rouge sang, mousseux, auquel on reconnaît des actions physiques et thérapeutiques très nettes. Le latex mêlé à l'eau a un pouvoir aphrogène, il mousse abondamment par agitation comme une eau savonneuse, il nettoie les mains en les rendant d'une blancheur remarquable ; le latex appliqué sur le visage laisse par dessiccation des traînées rouges sang, brillantes, facilement lavables à l'eau

(1) PITTIER. — Plantes du Costa-Rica. *Fac. Pharm.*, n° 28.132, éd. H. L. et J. B. Mc Queen, Washington, 1908.

et donnant à l'épiderme une pâleur cadavérique. L'hygiène ayant amené quelques personnes à utiliser le latex naturel liquide ou son extrait sec obtenu par évaporation, dans le but de blanchir les dents, on a remarqué que la pyorrhée alvéolaire et la gingivite scorbutique étaient fortement améliorées et guéries parfois à la suite de l'usage du « Targwa » (1).

Le latex est également conseillé pour tarir la blennorragie et la gonorrhée, avec de plus un grand pouvoir antiphlogistique. Dans les pays tropicaux, les empiriques ne lui connaissent aucune propriété toxique ou corrosive.

Ces diverses propriétés empiriques nous ont amené à faire l'étude approfondie du « Targwa » et de deux de ses composants : saponine et catéchine. Les échantillons de bois et le latex liquide et séché que nous avons étudiés à Paris nous ont été envoyés par les soins de Monsieur Alfredo CASTRO FERNANDEZ, propriétaire au Costa-Rica à qui nous adressons nos remerciements.

Nous remercions tous ceux qui nous ont aidés par leurs conseils à démêler la composition si complexe d'un latex ; plus spécialement Monsieur le Professeur Gabriel BERTRAND, Monsieur le Professeur JAVILLIER, Monsieur le Professeur BOUGAULT, nos maîtres de la Faculté des Sciences, de la Faculté de Médecine et de la Faculté de Pharmacie.

Recherchant la clarté dans cette étude, au premier abord assez complexe, l'exposé de ce travail sera divisé en six parties :

CHAPITRE I : Etude botanique de la plante, origine botanique, répartition géographique, morphologie, histologie.

CHAPITRE II : Etude du latex, structure, extraction, conservation, utilisation empirique.

(1) Le latex du « Targwa » n'est donc pas corrosif comme le sont les latex desséchés de certains arbres à laque. Aucun vaso-constricteur épidermique toxique n'a pu y être décelé.

CHAPITRE III : Notions générales sur les composés retirés du latex : les saponines — les catéchines.

CHAPITRE IV : Etude expérimentale, physique, chimique et biochimique du latex (Constituants chimiques, ferments).

CHAPITRE V : Essais physiologiques et bactériologiques des composés retirés du latex.

CHAPITRE VI : Conclusion — Bibliographie.

CHAPITRE I.

Etude botanique de la plante.

On désigne vulgairement aux tropiques américains sous le nom de « Targwa », plusieurs espèces de *Croton* qui ont, extérieurement, le même aspect d'arbustes en forme de parasols et donnent une sève abondante, efficace contre la pyorrhée alvéolaire.

L'espèce la plus répandue est le « *Croton Gossypifolius* » qui présente deux variétés *alba* et *rubra*. On rencontre ces variétés surtout au Costa-Rica et au Vénézuéla. Il en existe une autre espèce que l'on trouve surtout au Mexique dans la province de Xalapa, c'est le « *Croton Xalapensis* » dont les feuilles sont plus lancéolées et la plante d'aspect plus grêle que le « *Croton Gossypifolius* ».

Etude du *Croton Gossypifolius*,

(variété dite colorée ou rouge).

Description de la Plante.

Le « Targwa » a l'aspect d'un arbuste en forme de parasol plutôt que d'un arbre. Haut de trois à quatre mètres, écorce de couleur cendrée, bois blanc et mou. L'écorce donne par incision un latex qui rougit immédiatement à l'air.

Les feuilles sont pétiolées, cordiformes, à grosse nervure médiane ; les nervures secondaires pennées avec un réseau réticulaire de petites nervures.

La feuille est velue, de couleur gris-vert, sa face supérieure bombée, sa face inférieure concave, moins velue que la face supérieure et d'aspect plus vert. La disposition des nervures sur le limbe de la feuille donne à celle-ci un aspect alvéolaire.

Les fleurs sont petites et bisexuées, d'aspect urséiforme et disposées en cime. Le fruit est un akène, la graine est presque quadrangulaire.

PLACE DE LA PLANTE DANS LA CLASSIFICATION.

Le « *Croton Gossypifolius* » appartient à la famille des Euphorbiacées dans laquelle le genre *Croton* est le plus nombreux après le genre *Euphorbe*.

On trouve une soixantaine d'espèces de *Croton* au Costa-Rica seul ; ces diverses espèces ont été décrites par PITTIER (1).

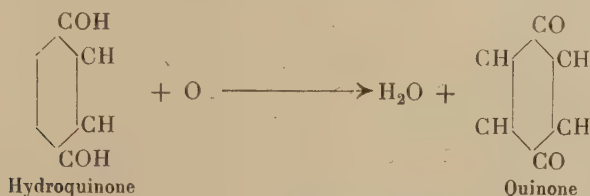
Le « *Croton Gossypifolius* » se propage par semis et met quatre à cinq années pour atteindre son développement total. Dans les tropiques il atteint à ce moment 3 à 4 mètres de haut. D'autres Euphorbiacées sont également intéressantes au point de vue biochimique et ont été étudiées les unes pour leur latex, (*Euphorbe* et *Chélidoine*), les autres pour leur huile (huile de Ricin du *Ricinus communis* et huile de Bancoul de l'*Aleurite*, variété *triloba* et variété *cordata*). Le *Croton tiglium* donne une huile colorée et on obtient un latex vésicant de l'*Hippomane mancinella*.

Enfin cette grande famille botanique groupe les *Hevea* à caoutchouc et les *Manihot* au latex riche en amidon (2). Des analogies remarquables avec la famille des Euphorbiacées et la plante que nous étudions se rencontrent dans la famille des Anacardiées, on y trouve en effet le *Quebrako* du *Lexopterygium Lorentzii*, les *Rhus vernicifera* et *semialata* et l'*Anacardium occiden-*

(1) PITTIER. — Plantes du Costa-Rica. — *Loc. cit.*

(2) Les Euphorbiacées. *Bibl. Fac. Pharm.*, Paris.

tale (1). Le latex du *Rhus succedanea* a été étudié par M. G. BERTRAND (2) qui a montré que la coloration qui se produit est due à une transformation quinonique suivant le schéma suivant :



L'étude de ce latex a également fait l'objet d'un travail de M. BROOKS.

De plus le phénol qui s'oxyde (le laccol) produit des dermites, (maladie du laqueur, clous de vernis) (3) (4). L'étude du latex de *Croton Gossypifolius* nous montrera que la coloration rouge est due à une oxyflavane (Catéchine) et que le latex liquide ou sec n'est nullement corrosif.

Géographie Botanique.

Le *Croton Gossypifolius* est capable de se développer dans tous les climats tempérés, il n'atteint cependant son développement normal que sous les tropiques et à une altitude de 400 m. au-dessus du niveau de la mer. Les semis faits à Paris n'ont donné que des arbrisseaux ou des plants ligneux peu développés. Dans les pays de culture électorale ou n'en rencontre point en forêts, mais seulement en petits îlots sur des terrains sablonneux. Il est également cultivé pour apporter ombre et frai-

(1) LATOUR et CAZENEUVE. — *B. S. Ch.*, 2, 24, 118.

FREUDENBERG. — *Ber.*, 55, 1738.

(2) Gab. BERTRAND. — Cf. Bibliographie.

BROOKS. — Th. 1932, lab. Prof. Gabriel BERTRAND. Bibliothèque Inst. Pasteur, n° 71, éd. Jouve et Cie.

(3) YOSHIDA. — Chemistry of lacquer (YRUSHI). *J. of the Am. Ch. Soc.*, t. XLIII, p. 472, 1883.

(4) Gabriel BERTRAND. — Recherche sur le latex de l'arbre à laque du Tonkin. *Bull. Soc. Chim.*, t. XI, p. 717, 1894 ; *C. R. Ac. Sc.*, 118, 1894, p. 1215.

cheur aux autres cultures et en particulier aux cultures de café dans les riches plantations du Costa-Rica.

CROTON XALAPENSIS.

Le but de ce travail n'étant pas l'étude du *Croton Xalapensis* (1), nous nous en tenons à ce qui a été dit plus haut. D'ailleurs sa sève est douée de propriétés aphrogènes mais elle n'est point aussi antiseptique que celle du *Croton Gossypifolius*. Son étude sommaire nous a permis d'y déceler une saponine, un complexe glucosidique, un sucre et un produit phénolique en petite quantité.

MORPHOLOGIE INTERNE DU « *Croton Gossypifolius* ».

Tige : La tige que nous destinons à l'examen micrographique est petite, gris-verdâtre, molle, flexible et facile à couper.

La section transversale montre une couche subéreuse, du collenchyme, du parenchyme cortical, du liber, du bois et une moelle abondante.

Au-dessous de l'épiderme on trouve des formations de cellules subérophellodermiques, puis une couche de parenchyme et une couche de liber. Ces trois groupes de formations contiennent des laticifères inarticulés producteurs de latex. La coupe verticale tangentielle montre ces canaux laticifères.

Le bois est fait d'anneaux ligneux épars avec rayons médullaires réguliers.

La moelle est abondante et faite de larges cellules polyédriques irrégulières.

La feuille présente une nervure médiane creusant entre deux lobes bombés une forte concavité. La coupe transversale de la feuille met en relief cette disposition. La nervure médiane contient des laticifères.

(1) PITTIER (H.). *Loc. cit.*

CHAPITRE II.

Le Latex — Extraction — Usages.

Notions empiriques.

OBTENTION DU LATEX. — Pour obtenir du latex, les indigènes vivant aux tropiques pratiquent dans l'écorce de l'arbuste des incisions allant jusqu'au bois. Ces incisions sont faites en V de préférence. Il apparaît de suite une sève abondante rouge ; cette couleur rouge reste telle qu'elle est apparue à l'air et en vieillissant elle passe à un rouge moins vif. Mise en flacon elle laissera se former un dépôt rougeâtre dont nous reparlerons dans l'étude chimique du latex.

EPOQUE DE LA RÉCOLTE. — C'est au printemps et en été que l'on recueille le plus de latex. On peut en obtenir 150 cm³ à 200 cm³ par 24 heures et par arbre en avril. Mis en flacons secs et bouchés, le latex se conserve sans aucune fermentation (1). Toute trace d'eau ou d'un produit quelconque détruit la structure du latex et peut donner des précipitations et des fermentations. Dans la plupart des flacons contenant du latex depuis six mois environ, on trouve un dépôt de couleur beige que nous étudierons. Parfois le mélange de latex pris en différentes régions provoque un léger précipité, nous l'avons observé nous-même en mélangeant du latex recueilli à Santa-Barbara de Hérédia (Costa-Rica) et du latex d'arbres de Alagouanine (Costa-Rica).

(1) Pour l'analyse biochimique, une quantité importante de latex a été recueillie dans de l'alcool à 70° et le mélange soumis à l'ébullition.

Si on étale du latex sur des plaques de verre et qu'on le laisse sécher à l'air ou si on l'évapore à l'étuve à basse température, on obtient des lamelles rouges foncées transparentes que l'on peut pulvériser pour obtenir une poudre rouge foncée.

NOTIONS EMPIRIQUES. — Le latex frais est visqueux, il mousse abondamment par agitation ; avec l'eau il donne un mélange trouble, fortement mousseux, lavant parfaitement les mains. Mélangé à de l'eau salée, il donne sensiblement le même résultat (1).

Si on laisse sécher une couche de Targwa sur le visage ou sur les mains et qu'on lave à l'eau la pellicule ainsi formée, on voit apparaître une peau blanche, lisse, pouvant donner au visage un aspect cadavérique. Nos expériences montreront s'il s'agit d'un phénomène physique de simple rétraction ou si le latex contient une substance vasoconstrictrice.

En malaxant du latex dans les mains il englobe les bulles d'air et perd son coloris rouge pour prendre l'aspect d'une crème beige clair.

Les cultivateurs du pays et les tribus indiennes des tropiques utilisent le latex de Targwa pour le lavage et le soin des dents que ce produit rend d'une blancheur éclatante ; mais, de plus il a été observé qu'il guérissait la pyorrhée alvéolaire et la gengivite scorbutique et des empiriques et des petits marchands vendent le latex dans ce but. La mode joue un grand rôle, car par mode plus que par science (ce produit n'ayant pas encore été étudié) certains fabricants de poudre dentifrice de l'Amérique du Sud mêlent de la poudre de Targwa à leur produit, cette poudre n'étant pas vésicante (2).

Les indigènes de l'Amérique Centrale et de l'Amérique du Sud (Costa-Rica, Honduras, Nicaragua, Panama,

(1) Ce pouvoir aphrogène est dû à une saponine dont la séparation sera réalisée au cours de ce travail.

(2) YOSHIDA. — Chemistry of lacquer (YRUSHI). Cf. Bibliographie. BROOKS. — Th. 1932. Cf. Bibliographie.

Colombie, Vénézuéla) utilisent aussi le Targwa liquide en lavages externes et en injections contre la blennorragie et souvent recommandent d'en avaler quelques gouttes chaque jour (1), ce qui nous donne une précieuse indication expérimentale au point de vue toxicité (2).

Enfin le latex teint fortement le coton en rouge sang. Nous avons nous-même fait à ce sujet des expériences intéressantes et obtenu diverses teintes avec des cotons mordancés au chrome et à l'aluminium.

(1) Remarquons qu'autrefois le cachou était employé « Per os » et en lavages contre la gonorrhée et la leucorrhée. Un des corps extrait à l'état cristallisé du latex du targwa est du groupe de la catéchine retirée du cachou.

(2) Beaucoup lui attribuent même des propriétés diurétiques, ce qui est à rapprocher des propriétés diurétiques de certaines plantes à saponine.

CHAPITRE III.

I. — Caractères généraux des Saponines.

II. — Caractères généraux des Catéchines.

I. — SAPONINES.

Au cours de ce travail apparaît souvent le mot « Saponine » ; en présence de la masse de travaux publiés à ce sujet, nous avons pensé qu'il serait intéressant de les réunir et les résumer sous la forme d'un ensemble qui puisse donner une idée de l'état actuel de la question (1).

Définition. — On désigne sous le nom de saponines (ou saponosides selon la nouvelle nomenclature internationale) des substances qui sont des hétérosides et possèdent une série de propriétés physiques qui permettent de les caractériser.

PROPRIÉTÉS GÉNÉRALES COMMUNES.

Les saponines donnent des solutions aqueuses qui, par agitation, produisent une mousse abondante et durable comme le feraient des solutions de savon, c'est de cette propriété que la saponaire officinale et les saponines elles-mêmes tirent leur nom. En outre, les saponines jouissent de la propriété de détruire les globules du sang, de provoquer leur hémolyse, phénomène que le

(1) Saponinen Lehrbuch der Physiopharm. Prof. B. WASIEKYD, 1932 et L. KOFER, Handbuch der Pflanzenanalyse, KLEIN, 1932.

cholestérol, en se combinant avec elles, peut les empêcher de produire.

On ne connaît jusqu'à présent que quelques saponines qui ne soient pas hémolytiques, en particulier la solanine qui est en réalité une saponine alcaloïdique et la saponine de la luzerne ou alfasaponine. D'autres sont peu hémolytiques *in vitro* (gaïac) ; pour produire l'hémolyse *in vitro* la concentration du milieu en saponine doit être généralement forte (1/10). Pour produire l'hémolyse *in vivo*, la proportion de saponine hémolytique doit être plus forte encore et la saponine se trouve peu à peu détruite par hydrolyse (dûe aux ferments sanguins) ou par combinaison (stérols sanguins).

Toutes les saponines ne se combinent pas nécessairement aux stérols, mais quand il y a combinaison, le pouvoir hémolytique des saponines disparaît.

CLASSIFICATION DES SAPONINES.

En suivant la classification de KOBERT à qui ont doit tant pour cette question, on divise les saponines en saponines acides et en saponines neutres, en se basant sur le fait que lorsqu'on ajoute une solution d'acétate neutre de plomb à un extrait aqueux végétal contenant des saponines, il en est qui se précipitent, alors que d'autres restent en solution et peuvent à leur tour être précipitées du filtrat de la précédente opération quand on ajoute à ce filtrat du sous-acétate de plomb.

KOBERT a désigné sous le nom de saponines acides ou acides saponiniques, les saponines qui précipitent par l'acétate neutre de plomb, et sous le nom de saponines neutres celles qui précipitent par le sous-acétate de plomb.

D'après SIEBURG (1) on ne devrait désigner sous le nom d'acides saponiniques que les saponines qui sont

(1) SIEBURG. — Isolierung Nachweiss und Abbaustudien auf dem Gebiete der Saponine, in : E. ALBERHALDEN : Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, I, 10^e part. (1923), p. 545-584.

solubles dans l'eau sous forme de combinaisons alcalines et qui précipitent de ces solutions par addition d'acide minéral. Cette manière de voir a amené KOBERT à créer un troisième groupe de saponines et à diviser l'ensemble de ces substances en : 1° saponines neutres, 2° saponines acides, 3° acides saponiniques.

A propos des diverses classifications des saponines, rappelons la classification proposée par G. MASSON (1) en 1910. Dans les plantes à saponines il reconnaît deux classes de corps confondus sous le nom de saponines : Les saponines vraies et les saponoides auxquels il attribue les propriétés suivantes : les saponines vraies sont insolubles dans l'eau et incolores, insolubles dans l'alcool absolu, l'éther acétique, tandis que les saponoides sont insolubles dans l'eau, colorés, solubles dans l'alcool absolu, l'éther acétique et parfois même dans l'éther.

Les saponoides ne sont solubles dans l'eau que sous forme de combinaisons alcalines ; si on dialyse ces solutions, elles perdent peu à peu de l'alcali et le saponuide précipite insoluble.

Les saponines et les saponoides, après purification, ne sont plus susceptibles de dialyser.

Le tanin, sans action sur les saponines, précipite au contraire les saponoides sous forme de combinaisons insolubles dans l'eau, mais solubles dans l'alcool.

Beaucoup de plantes dont les extraits sont émulsifs et aphrogènes, contiennent des saponoides sans traces de saponine, et, quand une plante contient une saponine vraie, celle-ci est toujours accompagnée d'un saponuide ; dès lors les saponoides correspondraient aux saponines acides et les saponines vraies aux saponines neutres ou sapotoxines des anciens auteurs. Pour MASSON, le nombre des saponines vraies serait beaucoup plus restreint qu'on ne le pensait avant lui, il les considère comme les éthers d'un acide commun, l'acide sapogénique, et de plusieurs hydrates de carbone, de nature probablement différente.

Mais quoiqu'il en soit, on ne saurait classer les sapo-

(1) MASSON. — Recherches sur quelques plantes à saponine. *Th. Doct. Ph.*, Paris, 1910.

nines d'une manière rationnelle tant qu'on ne connaîtra pas leur constitution et qu'on en sera réduit à se baser sur leurs propriétés physiques ou sur la façon dont elles se comportent en présence des acides ou des bases.

Toutefois, il semble opportun, au moins provisoirement et au point de vue pratique d'établir une différence entre les saponines neutres et acides, de considérer les acides saponiniques comme étant des saponines acides et de dire : les saponines neutres sont celles qui sont facilement solubles dans l'eau pure ou acidulée, les saponines acides et les acides saponiniques y étant insolubles ou difficilement solubles, mais se dissolvant dans les alcalis dilués, d'où les acides les précipitent.

Ce qui revient en somme à la classification initiale de KOBERT, l'expérience ayant démontré que la majeure partie des saponines dites acides précipitent par l'acétate de plomb et qu'en général les saponines dites neutres ne précipitent que par le sous-acétate de plomb, bien qu'on ait signalé pas mal d'exceptions à cette règle : la Yégosaponine, du *Styrax japonica*, est bien un acide saponinique insoluble dans l'eau, soluble dans les alcalis et pourtant elle ne précipite pas par l'acétate de plomb ; de même la saponine du *Sapindus Mukorossi*, bien que de nature acide également, ne précipite pas non plus par l'acétate de plomb.

En outre il faut tenir compte que, quand elles sont impures, certaines saponines précipitent par l'acétate de plomb et ne le font plus à l'état de pureté. VAN DER HAAR (1) a le premier signalé le fait à propos de la Saponine du *Polyxias nodosa* de sorte que si l'on veut distinguer entre les saponines acides et les saponines neutres, il faut tenir compte non seulement de l'action qu'exercent sur elles les sels de plomb, mais encore de leurs autres propriétés.

Une classification des saponines a été proposée par KOFLER et LAZAR en 1927. Ils (2) rangent les saponines

(1) VAN DER HAAR. — Cf. Bibliographie.

(2) L. KOFLER et Z. LAZAR. — *Arch. d. Pharma.*, (1927), 265, p. 610.

en deux types différents d'après leur action physiologique :

Type 1. — Saponines dont le pouvoir hémolytique est minimum pour un pH de 8,7 à 9,6 et augmente souvent du double quand l'action du milieu se modifie soit dans le sens acide, soit dans le sens alcalin.

Type 2. — Saponines dont le pouvoir hémolytique faible pour un pH 10,3, donc alcalin, croît à mesure qu'on retourne vers l'acidité pour devenir 100 fois plus grand pour un pH 5,6.

Au type 1 appartiennent les saponines des saponaires blanches et rouges, la saponine du Quillaya, la digitonine, la cyclamine, l'acide primulique, la saponine du Marron d'Inde.

Dans le type 2 se rangent les saponines du savonnier, du polygala, de l'Homiaire, de l'épinard, de la betterave fourragère, ainsi que l'hédérine.

Les travaux réalisés sur la saponine du latex du Targwa et les essais faits sur d'autres saponines végétales nous ont amenés à la classification suivante :

1 ^{er} groupe	{ Saponosides. Saponines neutres. Saponines complètement salifiées par un composé du milieu où elles se trouvent. (Toutes ces saponines sont insolubles dans l'éther, précipitées par l'acétate de plomb basique).	+ hydrolyse =	{ Sapogénine (Terpènes (aglucone { Stérols cristallisé). { Phytostérols Glucides... { Pentoses Hexoses
2 ^e groupe	{ Saponines acides non complètement salifiées. Acides saponiniques. Saponines acides en combinaisons instables et fragiles avec les fonctions salifiables du milieu où elles se trouvent. (Insolubles dans l'éther, précipitées par l'acétate de plomb neutre).	+ hydrolyse =	{ Sapogénine (Terpènes (aglucone { Stérols cristallisé). { Phytostérols Glucides... { Pentoses Hexoses

Dans un même milieu biologique, il est possible de trouver des saponines de groupes différents précipitant successivement par l'acétate de plomb, puis par le sous-acétate de plomb : dans toutes après hydrolyse, il sera possible de déceler des glucides et un reste agluconique.

A notre avis leurs caractères principaux sont leur propriété aphrogène, la nature de leurs combinaisons dans le milieu où elles se trouvent, et leur caractère d'hétéroside.

RÉPARTITION DES SAPONINES DANS LE MONDE VÉGÉTAL.

Les saponines existent dans un grand nombre de plantes et elles sont les caractéristiques de certaines familles, telles les Cariophyllacées, les Sapindacées, Chénopodiacées où on les rencontre généralement.

Mais la saponine ne présente pas dans les familles dites à saponine, une diffusion telle que celle qu'on admet, par exemple, pour le tanin chez les Rosacées, ou pour l'inuline chez les Composées ; chez les Cariophyllacées, il existe à la fois des genres à saponine et des genres qui en sont dépourvus. D'ailleurs dans une même plante, la saponine peut se trouver partout ou se localiser dans quelques organes seulement.

On a prétendu également que la saponine se forme dans les feuilles pour émigrer de là dans d'autres organes : il ne semble pas que cette opinion soit véridique ; outre que les parois cellulaires ne laissent pas facilement dialyser la saponine, on sait que chez certains Gypsophila les racines sont très riches en saponine, alors qu'il n'y en a pas trace dans les feuilles. Les diverses parties d'une plante peuvent même contenir des saponines différentes : ainsi la saponine extraite des feuilles du Gaïac (*Gaïacum officinale* L.) manifeste un très grand pouvoir hémolytique, tandis que celles provenant des écorces de la même plante ne l'accuse que très faiblement. Il est assez rare que le bois contiennent des saponines,

ROSENTHALER a démontré la fausseté de l'opinion qui voulait qu'on ne puisse trouver côte à côte des saponines et certaines autres substances : glucosides cyanogénétiques et saponines, ou huiles essentielles et saponines, en établissant la présence simultanée dans les clous de girofle d'une huile essentielle et d'une sapogénine, la caryophylline. Quant à la teneur des végétaux en saponine, elle peut varier depuis des traces, dans certaines espèces, jusqu'à 38 p. 100 par exemple dans les fruits du *Sapindus* (*Sapindus utilis*).

PRÉPARATION ET PURIFICATION DES SAPONINES.

Quand il s'agit de préparer les saponines à l'état de pureté on se heurte aux plus grandes difficultés, car ces substances retiennent avec opiniâtreté des impuretés tant organiques que minérales, on n'arrive qu'avec beaucoup de peine, de temps, (avec pertes importantes) à les purifier. De plus les saponines sont bien souvent des composés fragiles, qui se modifient facilement ; cédant leurs sucres glucosidiques, se saponifiant quand elles ont des groupes éthers dans leurs molécules, ou bien, laissant s'ouvrir des noyaux lactoniques, qui par relactonisation peuvent donner de nouveaux isomères. Ces seuls faits permettent de juger à quelles difficultés on s'oppose, quand on veut obtenir une saponine pure, définie, unique, et dont les propriétés physiologiques n'aient pas été modifiées.

Il est impossible actuellement de donner une méthode générale qui permette d'isoler, à coup sûr, une saponine pure ; il y a cependant des règles générales dont il est bon de ne pas s'écarter.

Quand on traite une drogue à saponine par de l'alcool bouillant, à haut titre, la saponine se sépare de cette solution, soit par refroidissement, soit par concentration, surtout si l'on a pris soin d'extraire de la plante étudiée les matières grasses, les cires et la chlorophylle par un épuisement préalable au moyen de l'éther éthylique ou

de l'éther de pétrole. On arrive souvent avec plus de facilité à préparer une saponine propre en épuisant la plante à l'alcool méthylique bouillant ; l'alcool méthylique est concentré, et, à froid, additionné d'éther qui précipite la saponine et laisse en solution les cires, les résines et certaines matières colorantes. La saponine précipitée, reprise à l'eau chloroformée et soumise à l'électrodialyse, devient en général suffisamment pure pour se prêter à la recherche.

Quand il peut s'appliquer, le procédé à l'alcool méthylique et à l'éther est de beaucoup supérieur aux diverses méthodes dites « au plomb », qui donne des saponines plus ou moins colorées ; « à la magnésie », qui s'accompagne de pertes notables ; « à la baryte », qui fait perdre aux saponines leurs propriétés physiologiques. Il convient de citer également le procédé qui consiste à précipiter une saponine par le cholestérol, et à séparer ensuite la saponine du cholestéride obtenu ; cette méthode n'a guère eu que des applications analytiques et ne s'applique qu'à celles des saponines capables de se combiner au cholestérol, ce qui n'est pas le cas de toutes (1).

Certaines saponines peuvent être séparées de leurs solutions aqueuses en saturant celles-ci d'un sel minéral : chlorure de sodium, sulfate de magnésium ou sulfate d'ammonium, puis soumettant à l'électrodialyse le complexe de sel et de saponine obtenu.

DOSAGE DES SAPONINES.

Aucun de ces divers procédés de préparation des saponines ne peut servir à leur dosage ; pendant longtemps on a été réduit au point de vue quantitatif, soit à titrer le sucre lors de l'hydrolyse d'un poids donné de saponine, soit à peser la quantité de sapogénine obtenue dans cette opération : on comprend le rôle néfaste que

(1) KOFLER et RAUM. — Ueber die Fällbarkeit verschiedener Saponine durch Sterine. *Biochem. Zeitschr.*, 1930, 219, p. 335-340.

pouvaient jouer, quant à l'exactitude des résultats les impuretés contenues dans les saponines étudiées.

L'indice hémolitique représente la dilution à laquelle la drogue étudiée peut tout juste produire l'hémolyse totale des globules sanguins (KOFLER).

Le dosage des saponines par leur indice de mousse a été proposé par quelques auteurs, mais il faut tenir compte du fait que le pouvoir aphrogène ne correspond pas toujours au poids proportionnel de saponine et que sa détermination est loin de donner des résultats aussi exacts que ceux obtenus par la mesure du pouvoir hémolitique d'une saponine. L'indice de mousse d'une saponine varie sous l'influence de diverses substances ; il est déterminé par la méthode de dilution, comme l'indice hémolitique. La différence entre l'indice de mousse et l'indice hémolitique constitue ce que KOFLER a désigné sous le nom de quotient-mousse-toxicité et représente une valeur caractéristique pour certaines saponines.

On a enfin cherché à doser les saponines en mesurant leur toxicité sur les poissons ; les résultats obtenus par cette méthode sont d'une façon générale parallèles à ceux que donne la détermination du pouvoir hémolitique.

KOFLER et DAFERT (1) ont montré que quand on prépare une saponine, il suffit à chaque stade de sa purification, de déterminer son indice hémolitique ; s'il ne change pas et si l'on travaille en évitant avec soin les pertes au cours de la purification, on peut être assuré d'avoir retiré toute la saponine contenue dans une drogue, et dans la forme sous laquelle elle existe dans cette drogue.

RAPPORTS ENTRE SAPONINES ET SUCRES. RÉACTIONS CHIMIQUES DES SAPONINES.

Les saponines ou saponosides sont des hétérosides, et comme tels, elles se dédoublent par hydrolyse, en aglu-

(1) KOFLER-DAFERT. — Ueber das Saponin von *Gypsofyla paniculata*, Ber. d. d. Pharm. Gesell., (1923), 33, p. 215-229,

cones appelés sapogénines et en un ou plusieurs sucres. Mais ce clivage ne se fait que par étapes successives, en donnant d'abord des prosapogénines¹ contenant encore du sucre et enfin des sapogénines définitives qui n'en contiennent plus.

Lorsqu'une sapogénine contient à la fois deux sucres (ou oses) dans sa molécule, un hexose et un pentose par exemple, c'est l'hexose qui se sépare souvent le premier, avant le pentose, et si, à côté de ce sucre se trouve soit de l'acide glycuronique, soit de l'acide galacturonique, ceux-ci ne se séparent qu'après le pentose.

Les sapogénines définitives sont insolubles dans l'eau, les carbonates alcalins, et parfois même les alcalis caustiques à froid ; elles sont, par contre, solubles dans l'alcool, l'acétone, l'acide acétique cristallisable, et, en général, dans l'éther et le chloroforme. Les sapogénines cristallisent dans certains cas, alors que les saponines dont elles proviennent sont amorphes ; comme, en outre, elles sont relativement faciles à purifier, elles peuvent constituer des termes intermédiaires, qui ont été souvent utilisés dans l'étude des saponines. Jusqu'à ces dernières années, on savait assez peu de choses sur la constitution des sapogénines, mais les travaux récents de AOYAMA, DAFERT, JACOBS, KARRER, REHORST, RUZICKA, WEDEKIND, WINDAUS, VAN DER HAAR, WINTERSTEIN, etc., ont jeté quelques lumières sur cette constitution.

VAN DER HAAR (1) (2) (3) (4), en distillant l'hédéragénine sur la poudre de zinc, a obtenu un liquide, entraînable par la vapeur d'eau, auquel ses propriétés, sa composition et son poids moléculaire assignent une place parmi les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$) et une substance non

(1) VAN DER HAAR. — Untersuchungen in der Familie der Araliaceae, speziell über die Glukoside und Oxydase. *Th.*, Berne, 1913, p. 126.

(2) VAN DER HAAR. — Saponine aus der Blättern von Aralia Monta. *Bl. ber. d. d. chem. Ges.*, 1922, 55, III, p. 3041-3069.

(3) VAN DER HAAR. — *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, 1921, 40, p. 542-552.

(4) VAN DER HAAR. — *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, 1927, 46, p. 793-798.

entraînable par la vapeur d'eau qui donne la réaction du cholestérol de LIEBERMANN. Il a retrouvé dans les sapogénines provenant d'autres plantes (*Alaria montana* Bl. et *Pseudophœnix vinifera* Beccari) des sapogénines qu'il considère comme apparentées aux terpènes.

Cet auteur (VAN DER HAAR) ayant trouvé des résultats analogues avec les saponines de la digitonine, de l'arabine, de l'escine, des écorces de Gaïac, de la racine de Polygala et de la betterave à sucre, admit que toutes ces sapogénines possèdent un noyau terpénique commun auquel elles doivent la réaction colorée qu'elles donnent avec l'acide sulfurique.

VAN DER HAAR conclut en s'appuyant sur la réaction du cholestérol de LIEBERMANN et sur l'analogie que présentent lors de la distillation sur la poudre de zinc l'hédéragénine, la sitostérine, la cholestérine, l'acide ursolique et l'acide oléanolique, à l'étroite parenté chimique de ces corps tant avec les phytostérols qu'avec les terpènes et avec les sesquiterpènes.

JACOBS (1) a démontré l'identité de la sapogénine provenant de la saponine, du *Sapindus* (*Sapindus Saponaria* L.) avec l'hédéragénine. WINDAUS présumant qu'il existe des rapports originaires entre la sapogénine définitive de l'acide quillayique et les substances complexes analogues aux stérols, fait remarquer la parenté chimique qui doit exister dans la sapogénine du Quillaya et de l'hédéragénine. Puis WEDEKIND et SCHICKE (2) ont trouvé des analogies entre la sapogénine définitive du Quillaya, la githagénine ($C_{29}H_{44}O_4$) et la sapogénine du camélia (*Camellia japonica* L.).

Plus récemment, VAN DER HAAR (3) puis WINTERSTEIN et STEIN (4) ont prouvé l'identité de la sapogénine

(1) W. A. JACOBS. — Saponins. I. : The sapogenin obtained from soapnuts. *Journ. of biol. Chem.*, 1925, 63, p. 621-629.

(2) WEDEKIND et SCHICKE. — Ueber Githagenin und Githaginsäure. *Zeitschr. für physiol. Chem.*, 1929, 182, p. 72-81.

(3) VAN DER HAAR. — *Löc. cit.* (1927).

(4) WINTERSTEIN et STEIN. — Katalytische Hydrierung der Doppelbindung im Hederagenin. *Zeitschr. für physiol. Chem.*, 1931, 1991, p. 75-80.

de la betterave à sucre et de celle du Gaïac, avec l'acide oléanolique des feuilles d'olivier et la caryophylline des clous de Girofle. Il est dès lors permis de dire que les substances désignées sous le nom de saponines sont des glucosides de phytostérols et que dans la nature, les sapogénines libres existent bien plus fréquemment qu'on ne l'admettait jusqu'ici.

D'après WINDAUS, la digitogénine et la gitogénine, saponines neutres provenant des graines de la Digitale pourpre, possèderaient dans leur molécule quatre noyaux hydrogénés qui sont selon lui (1), des produits de transformation de stérols. On peut d'ailleurs admettre la parenté de la digitonine (digitonoside) avec le cholestérol : outre leur noyau tétracyclique, ces deux substances contiennent une chaîne latérale qui, par oxydation énergique, donne de l'acide α -méthylglutarique. Pour ce même auteur, la digitogénine et la gitogénine auraient également des rapports avec les génines des poisons cardiaques, et, en outre, les saponines et les glucosides à action cardiaque présentent au point de vue physiologique, de nombreuses analogies.

RAPPORTS ENTRE SAPOGÉNINES ET DÉRIVÉS TERPÉNIQUES.

Enfin RUZICKA et VAN VEEN (2) ont montré les rapports étroits qui existent entre les sapogénines et certains dérivés triterpéniques naturels. En déshydrogénant la gypsogénine par le sélénium, ces auteurs ont obtenu une triméthylnaphtaline, dont le picrate fond à 127°, la même ayant déjà été signalée précédemment lors de la déshydrogénation de l'amyrine, et qu'ils ont appelée sapotaline. Ils l'ont obtenue aussi en déshydrogénant par le sélénium d'autres sapogénines ou substances voisines :

(1) WINDAUS. — Nachr. K. Ges. Wiss. zu Göttingen, Math. phys. Kl., 16 janv. 1925 cité par KLEIN : *Handbuch der Pflanzenanalyse*, Wien, 1932, III, 2, II, p. 1145.

(2) RUZICKA (L.) et VAN VEEN. — Beitrag zur Kenntnis der Zusammenhänge zwischen den Sapogeninen, höheren Terpenverbindungen und Sterinen. *Zeitschr. für physiol. Chem.*, 1929, 184, p. 69-82

l'escigénine, la cyclamine, la sapogénine du Gaïac, l'acide glycyrrhétique, l'hédéragénine, la sapogénine du *Mimosa Elengi* L. (identique à celle de l'*Achras Sapota* L.), la sapogénine du quillaya, l'ursone (acide ursolique) et la sapogénine de la betterave à sucre. La sapotaline s'obtient à partir de ces diverses substances en telle quantité, par rapport à celle que donne, d'ordinaire, la déshydrogénation par le sélénium, qu'on est bien obligé de reconnaître que la sapotaline constitue le produit principal de cette déshydrogénation. Bien qu'on ne connaisse pas encore le mécanisme de sa formation, on peut admettre, dès à présent, qu'il existe une étroite parenté entre les sapogénines et les dérivés triterpéniques naturels et qu'une partie tout au moins de ces deux sortes de composés doit posséder une structure analogue. Toutefois RUZICKA et VAN VEEN pensent que, probablement, la constitution des sapogénines qu'ils ont étudiées diffère par certains points du squelette carboné du cholestérol et des acides biliaires, car il semble impossible d'en extraire de la triméthylnaphtaline. Ils admettent pourtant que certains fragments de la molécule sont identiques dans le cholestérol et dans de nombreuses sapogénines, comme semble le prouver la production de méthylheptanone, qu'ils ont obtenue à partir de la sapogénine de la Salsepareille (salsasapogénine).

Enfin on a déterminé que l'oxygène contenu dans certaines sapogénines fait partie de groupes oxhydryle, cétone ou carboxyle, ou qu'il appartient soit à des anneaux lactoniques, soit à des liaisons oxydiques. Par la décomposition ménagée des saponines on a obtenu, selon les cas, du glucose, du fructose, du galactose, de l'arabinose, du xylose, du rhamnose (le glucose et l'arabinose étant les plus fréquents), de l'acide glycuronique et de l'acide galacturonique.

RÉACTIONS QUALITATIVES DES SAPONINES.

Si le terme « saponine », caractérisé par le pouvoir aphrogène, la nature glucosidique et l'action hémolytique, rend assez facile l'identification d'une substance réunissant ces trois propriétés, on s'aperçoit, quand on veut pousser plus loin cette identification qu'on ne dispose que de bien peu de réactions chimiques qui soient spécifiques des saponines.

La plus caractéristique est la réaction de l'acide sulfurique quand on traite très peu de saponine par quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, il se produit d'abord une coloration jaune ou orange, qui en quelques minutes, parfois au bout d'une demi-heure, passe au rouge, pour virer, au bout d'un temps assez long au rouge-violet. Les diverses nuances qui se succèdent au cours de cette réaction varient avec chaque saponine et selon le degré de pureté. Cette réaction, qui peut s'effectuer à une chaleur modérée, se produit aussi avec un mélange à parties égales d'alcool à 96° et d'acide sulfurique concentré. Mais il faut se rappeler, que non seulement les saponines, mais encore les sapogénines donnent cette réaction que VAN DER HAAR attribue à la portion terpénique des saponines.

On a proposé d'autres réactifs pour la diagnose des saponines : le réactif de MECKE, ou de LAFON (sulfosélénite d'ammonium), le mélange d'anhydride acétique et d'acide sulfurique, les réactions de MILLON, de NESSLER, l'acide sulfurique additionné d'azotate de potassium, le bichromate de potassium et l'acide chlorhydrique ; mais, à part la réaction produite par l'acide sulfurique, aucune des autres ne semble vraiment caractéristique, parce qu'elles se rapportent en réalité à la portion sucrée des saponines, et si cette réaction par l'acide sulfurique reste pratiquement la seule utilisée, elle n'est pourtant pas spécifique des saponines, surtout quand celles-ci se trouvent en présence d'autres substances organiques qui les souillent.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES DES SAPONINES.

En général, les saponines se présentent sous la forme de poudres blanches; elles sont parfois colorées en jaune ou en brun, assez souvent hygroskopiques, et presque toujours amorphes. On ne connaît jusqu'ici à l'état cristallisé que la digitonine, la cyclamine, l' α -hédérine, la dioscine, la yégo-saponine et l'acide primulique.

Les saponines sont plus ou moins facilement solubles dans l'eau, et ce sont les saponines le plus facilement solubles dans l'eau qui le sont le moins facilement dans l'alcool, cette solubilité étant inversement proportionnelle à la concentration de l'alcool; mais sans exception, les saponines sont très peu solubles dans l'alcool absolu, l'éther de pétrole, l'éther, le chloroforme, le benzène, l'éther acétique, le sulfure de carbone, les solvants chlorés (tétrachlorure de carbone, trichloréthylène, tétrachloréthane). Pourtant, on a trouvé dans la Betterave à sucre, deux saponines dont l'une est soluble dans l'éther.

Ainsi que nous l'avons déjà signalé, il existe des saponines qui précipitent de leurs solutions aqueuses quand on les sature d'un sel soluble : chlorure de sodium, sulfate de magnésium, sulfate d'ammonium, etc. Les saponines donnent avec l'eau des solutions colloïdales qui dialysent avec la plus grande difficulté et diminuent considérablement la tension superficielle, par rapport à l'air, de l'eau qui les a dissoutes. De cette action sur la tension superficielle découle leur pouvoir aphrogène et leur propriété de rendre mouillables à l'eau les surfaces grasses. C'est pour cela aussi que l'on éprouve de si grandes difficultés à obtenir des liquides limpides lors de la filtration de solutions de saponines contenant des précipités tenus en suspension (sulfure de plomb, noir décolorant etc.), si on ne prend pas la précaution de les additionner d'alcool avant de les passer sur le filtre. Les saponines peuvent remplacer les gommes et l'albumine pour la confection des émulsions. Leur pouvoir aphrogène

ne, c'est-à-dire leur aptitude à donner des solutions aqueuses moussant par agitation, explique que les plantes à saponine aient été utilisées de toute antiquité et par les peuples les plus divers pour les usages domestiques et le lavage des tissus. Leur pouvoir aphrogène est fortement modifié quand les solutions de saponines sont additionnées d'alcool, de chloroforme, de savon ou de lait. Enfin, les saponines sont des absorbants énergiques qui retiennent les substances les plus variées et qui se fixent avec opiniâtreté sur certains supports, ce qui explique qu'on ne peut les extraire des drogues qui en contiennent que par des lessivages répétés.

On connaît quelques saponines douées d'activité optique, la digitonine, la saponine de Betterave à sucre, la cyclamine, l'escine, la saponine du Polygala Senega, celle de la Salsepareille par exemple, et on trouve aussi bien des saponines dextrogyres (Saponaire) que des saponines lévogyres (écorce de Quillaya) ; au contraire, la saponine de la Nielle des blés est inactive sur la lumière polarisée (G. MASSON). Il est assez rare que les saponines possèdent un point de fusion bien net et souvent elles s'altèrent avant ou au moment de fondre. On ne peut guère citer que la saponine de l'*Agrostemma* (*Agrostemma Githago*) qui soit susceptible de se sublimer dans le vide profond sans se décomposer.

PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES DES SAPONINES.

Les saponines ont des saveurs variées, allant de celle franchement sucrée de la glycyrrhizine à l'amertume insupportable de la condurangine ; souvent elles sont irritantes pour les muqueuses, et, pulvérisées, elles sont sternutatoires. Mais si les plantes à saponine ont toujours joui de la faveur de la médecine populaire, la thérapeutique ne les a guère utilisées que comme expectorants, diurétiques et parfois antisiphilitiques (1) et les

(1) Salsepareille de Tampico.

saponines elles-mêmes n'ont guère été employées en nature ce qui s'explique par le fait que les saponines provenant de deux plantes très voisines, peuvent avoir des propriétés toutes différentes.

Nous l'avons déjà signalé à propos des feuilles et des écorces de *Gaïacum officinalis* L., et KOLLERT et REZECK (1) ont montré que la saponine du *Primula veris* L. (qui est l'acide primulique) administrée par voie endoveineuse et à doses mortelles est un poison rénal pour le lapin, alors que, dans les mêmes conditions, la saponine du *Primula élatior* Hill, est un poison hépatique pour le même animal.

Absorbées par voie gastrique, les saponines augmentent les facultés d'absorption du tube digestif pour certaines drogues. La saponine du gaïac (*Gaïacum officinale*) absorbée « per os » n'est pas toxique et a un pouvoir diurétique net, (expérience faite chez l'animal, chien et lapin, avec la saponine du gaïac et du Croton Gossypifolius). L'action diurétique des plantes à saponine est encore assez mal expliquée ; peut-être est-elle due à une augmentation de la résorption de sels ou de substances diurétiques ou à une action irritante directe exercée sur l'épithélium rénal ; nos recherches personnelles nous font penser qu'elle est due à une modification de la tension superficielle et aux sucres d'hydrolyse. Quand à leur action antisyphilitique elle n'a pas encore été définie exactement, pas plus que leurs propriétés anthelmintiques d'ailleurs contestées. Cependant il serait intéressant d'étudier les raisons qui ont conduit la médecine populaire à utiliser certaines plantes à saponine comme emménagogues ou abortifs (*Lychnis Flos-cuculi* L. dont l'usage est assez courant en Russie dans ce but) ou comme remède contre la lithiase biliaire, ce qui semble moins étonnant depuis qu'on sait la ressemblance des acides biliaires avec certains éléments constitutifs des saponines.

(1) KOLLERT et REZECK. — In : R. WASICKY. — Lehrbuch der Physiopharmakognosie. Leipzig und Wien, II, 1932, p. 389.

Ainsi que nous l'avons rappelé, les saponines possèdent la très intéressante propriété de faciliter l'absorption de certaines substances par le tube digestif ; les travaux de KOFLER et KAUREK (1) ont montré que les saponines rendent plus aisée pour l'intestin l'absorption de certains médicaments, de poisons ou de substances existant normalement dans les aliments. Ils ont observé que pour la Grenouille, la digitoxine ou la strophanthine administrée « per os » voient leur activité augmentée de 35 à 50 fois quand on les administre en même temps que des doses de saponines en elles-mêmes non nocives (0,5 à 1 p. 100 de la dose léthale). Les mêmes résultats ont été obtenus sur des animaux avec le curare, les sels ferriques et chez l'homme avec des sels de calcium, l'aspirine et des préparations d'hypophyse. Cette activation de la résorption par les saponines présente une importance considérable avec les aliments ou les médicaments qui contiennent des saponines.

II. — CATÉCHINES.

NOTIONS GÉNÉRALES.

L'analyse biochimique du latex a montré qu'il contenait une catéchine et que la coloration rouge est produite par les composés phénoliques d'oxydation et d'hydrolyse de cette catéchine.

Plusieurs colorants de ce type ont été déjà étudiés. Les premières études fondamentales ont été faites sur l'extrait de cachou appelé catéchu, d'où le nom de catéchine qui a été donné au produit d'extraction. Le nom de catéchu s'applique d'une façon générale à l'extrait aqueux réduit de certaines plantes tropicales, extrait qu'on emploie 1° comme colorant pour le coton, 2° comme tanin, 3° comme médicament.

Le catéchu d'acacia ou Pahucatechu, qu'on appelle

(1) L. KOFLER et KAUREK. — Ueber den Einfluss von Saponinen auf die Resorption von Strophantin und Digitoxin. *Arch. für exp. Path. und Pharmak.*, 1925, 109, p. 362-369.

aussi simplement catéchu, s'obtient par macération dans de l'eau froide du bois de l'Acacia catéchu et de l'Acacia suma, puis en réduisant par évaporation le liquide obtenu.

Le catéchu de Gambir, le Wurfel ou Blockcatéchu qu'on appelle plus simplement gambir, s'obtient en faisant bouillir dans de l'eau des feuilles et des bourgeons de l'Ourouparia gambir et des autres variétés d'Ourouparia.

Dans le catéchu d'acacia et de gambir ci-dessus mentionnés on trouve de la catéchine à côté des acides catéchu-tanniques et des autres substances composant ces produits.

Au point de vue commercial, le cachou est l'extrait du bois de mimosa ou d'acacia catéchu, arbre épineux qui croît aux Indes Orientales et surtout au Bengale.

L'Uncaria gambir (Rubiacees) qui croît à Malacca en Cochinchine, fournit au commerce une grande quantité de cachou (Gambir cubique), on obtient également un cachou de l'Aréka catéchu.

En général le catéchu s'obtient en faisant bouillir dans l'eau les feuilles et jeunes bourgeons, en filtrant le décocté, et faisant évaporer au soleil, puis divisant en pains.

Il y a plusieurs sortes principales de cachou commercial :

1° Le cachou du Bengale, rougeâtre, friable sous la dent, saveur astringente, sans amertume.

2° Le cachou de Bombay.

3° Le cachou commercial du Pegu ou Cashenttie, fourni surtout par l'Acacia catéchu.

Les kinos sont des extraits végétaux contenant de la catéchine et obtenus de plantes appartenant à des familles différentes.

Les types appartiennent à la famille des Légumineuses et particulièrement au genre *Ptérocarpus*. Celui qu'on décrit comme officinal est le kino de *Ptérocarpus marsupéum*, kino de Malabar. C'est la sève de l'arbre séchée en l'exposant à l'air libre.

Il arrive dans le commerce en petits fragments qui atteignent au plus la grosseur d'un pois. Ils sont anguleux, marqués de stries parallèles sur une face, d'un rouge noir, brillants, transparents, parfois en lames minces et paraissant ainsi d'un rouge de rubis. La substance est très friable et se divise facilement sous le simple effort des doigts, elle n'a pas d'odeur particulière ; sa saveur est astringente ; elle se dissout en grande partie dans l'eau froide et lui communique une couleur rouge ; il reste un résidu pâle, floconneux, soluble complètement dans l'alcool.

Dans la proportion de 1 pour 20 d'eau bouillante, il forme un soluté rouge sang qui donne avec le perchlorure de fer un précipité vert foncé floconneux, très abondant ; avec l'acétate de plomb, il donne un précipité gris ; avec le tartrate de potasse antimonié un précipité rouge gélatineux. Soumis à la distillation sèche, le kino donne de la pyrocatéchine. Par fusion potassique, il donne de la phloroglucine et de la pyrocatéchine.

Les autres sortes de kino sont :

Le kino de Gambir ou d'Afrique fourni par le *Ptérocarpus*. Il a au point de vue de sa solubilité et de ses propriétés chimiques des caractères analogues au précédent.

Le kino de Butes, kino du Bengale, de Palas ou de Pulas, fourni par le *Butea poudosa* (Légumineuses).

Le kino de Butany-Bayou d'Australie fourni par l'*Eucalyptus résinifera* (Myrtacées).

Le kino de la Jamaïque produit par le *Coccolana uvifera* (Polygonées).

Ces kinos possèdent toutes les propriétés du kino de Malabar ; celui-ci arrive de Sumatra avec le Gambir cubique.

On fait également un kino avec un acacia nain de l'Afrique Méridionale, l'acacia aux fèves d'Elan (*Elandibeabs*).

Il y a d'autres kinos récemment étudiés : le kino d'Algaraga blanc, *Prosopis Lorenzi* (Légumineuses), le kino

de Quebrako coloré, le kino d'*Eucalyptus globulus* (Myrtacées).

La catéchine fut découverte en 1821, par RUNGE, dans un catéchu d'acacia et fut décrite sous le nom de « Sel de Katécu », comme un produit cristallisé, difficilement soluble dans l'eau et donnant avec les sels de fer une couleur verte. NEES VON ESENBECK a isolé du catéchu de gambir et du catéchu de l'acacia un produit cristallisé qu'il appela katéchine ou naoclène. Cette matière ne se dissout pas dans l'eau froide et colore en vert les sels de fer. BÜCHNER appela acide tannigène un produit obtenu par le catéchu, produit très difficilement soluble dans l'eau froide. SVANBERG l'appela acide catéchique. ZWENGER et HAGEN adoptèrent à nouveau le nom de catéchine pour ce produit, nom proposé par NEES VON ESENBECK : c'est cette dénomination qui fut maintenue presque universellement. La structure chimique de la catéchine resta longtemps inconnue malgré de nombreuses recherches. KOSTANECKI et ses collaborateurs établirent en 1902 la formule moléculaire admise actuellement encore, et PERKIN avec YOSHITAKE démontrèrent la présence dans le catéchu de différentes combinaisons très semblables à cette combinaison catéchique.

La structure chimique de la catéchine fut définitivement établie en 1920 par les travaux de FREUDENBERG et de ses collaborateurs, PURRMANN, BÖHME. De leurs travaux, il résulte que les catéchines ont toutes la structure oxyflavanique ; la catéchine du Gambir est la 3-5-7-3', 4' pentaoxyflavane.

La catéchine du Quebrako est une hexaoxyflavane.

La catéchine d'acajou s'obtient en faisant un extrait du bois de la *Swientenia Mahogenie* ; c'est une pentaoxyflavane, forme droite et racémique.

La catéchine du *Paulinia Cupana* s'obtient à partir de la pâte de Guarana ; elle contient de la catéchine pentaoxyflavanique, variété droite et racémique.

La catéchine des graines de *Kola acuminata* s'obtient facilement des noix de kola fraîches ; c'est de la caté-

chine pentaoxyflavanique droite contenant un peu de épicatechine gauche.

BIGGS a isolé des graines de cacao fraîches une catéchine gauche pentaoxyflavanique.

La formule de la catéchine a été établie non seulement par analyse avec mise en évidence du noyau diphényle avec chaîne benzoïque latérale, mais la synthèse en a été faite à partir de la quercétine (1).

CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES CATÉCHINES.

Tandis que tous les dérivés oxydés des catéchines colorent en vert le perchlorure de fer, les dérivés hexaoxyflavaniques appartiennent comme le pyrogallol aux corps qui donnent une coloration bleu-fer. La réaction sur le perchlorure de fer ne se montre pas comme une réaction de classe, les meilleures réactions sont les réactions de précipitations avec le brome et le formol, car ces réactions sont communes aux catéchines et aux matières tanniques. Les catéchines cristallisées ou amorphes sont très solubles dans l'acétone et l'éther, peu solubles dans l'eau et l'alcool. Elles présentent des variétés optiques droites, gauches et racémiques et par suite de la mise en évidence des 2 carbones asymétriques il a été isolé deux groupes de variétés stéréoisomériques.

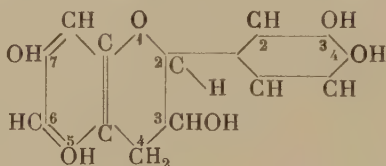
STRUCTURE DES CATÉCHINES ET EPICATÉCHINES, D'APRÈS LES TRAVAUX DE KOSTANECKI, FREUDENBERG ET SES COL- LABORATEURS, ET DE BIGGS.

VON KOSTANECKI et LAMPE ont montré que les catéchines étaient des composés cristallisés naturels qui se transforment à l'air en substances amorphes douées de pouvoir tannant ; ils ont pu extraire de tels produits de nombreux bois et de nombreuses substances végétales colorées en brun, en rouge, en jaune. KOSTANECKI et LAMPE ont établi les premiers que le « tanin cristallisé du Gambir », la catéchine du Gambir, donnait par fusion

(1) FREUDENBERG K. — Cf. Bibliographie.

alcaline de la phloroglucine et possédait 5 fonctions phénol par molécule. Enfin leurs recherches analytiques les ont conduits à l'éthyldiphényl-méthane comme noyau du produit isolé.

Cependant FREUDENBERG, CÖSE, BÖHME, PURRMANN isolèrent plusieurs catéchines ; par réduction ils obtinrent de toutes ces catéchines du diphénylpropane, ils y caractérisèrent toujours plusieurs groupes phénols et enfin réussirent la synthèse totale de la « catéchine pentaoxyflavonique », montrant que les catéchines ont pour noyau le noyau oxyflavanique (oxyflavanol). De plus tant par leurs recherches analytiques que par les travaux de racémisation sur les divers produits extraits, ils montrèrent l'existence de deux groupes de variétés stéréo-iso-



mériques avec la présence de 6 variétés optiques : l'un des groupes comprend une variété droite et gauche ayant un pouvoir optique univalent dans tous les solvants, l'autre groupe comprend deux variétés optiques multivalentes, moins solubles que les variétés optiques du premier groupe que FREUDENBERG appelle épicatechine par analogie avec la stéréoisomérisie des sucres ayant 2 atomes de carbone asymétrique.

GÉNÉRALITÉS SUR LES CATÉCHINES ET LEURS DÉRIVÉS COLORÉS.

La catéchine constitue le noyau des tanins catéchiques et de nombreuses matières colorantes végétales.

Les matières colorantes à noyau catéchique appartiennent à plusieurs groupes de composés.

1° Les Glucosides anthocyaniques (par exemple Idaiïne) qui sont la matière colorante de beaucoup de fleurs et de fruits, bleuets, roses, pélargonium, myrtille, raisin.

Cette coloration est liée à la présence dans le suc cellulaire de glucosides anthocyaniques ou anthocyanines (association de une ou de plusieurs molécules de matière sucrée plus de l'anthocyanidine selon WILLSTÖTTER).

La matière colorante de la fleur de bleuet est la cyanine. La matière colorante de la rose rouge est cette même cyanine. Cette matière colorante change de couleur suivant la réaction du milieu : rouge si le milieu est acide, bleue si le milieu a une réaction alcaline, violet plus ou moins bleu si la réaction du milieu est neutre.

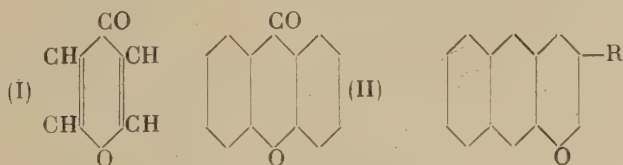
En milieu acide, les anthocyanines donnent des anthocyanidines qui appartiennent à la classe des sels de pyrilium.

Les anthocyanidines donnent des sels, mais donnent aussi des substances tautomères, des bases de pyrilium grâce aux (OH) phénoliques.

De plus on peut définir trois types d'anthocyanidines :

- a) Le type de la pélargonidine
- b) Le type de la cyanidine
- c) Le type de la delphinidine et ses sels de couleurs variables suivant la réaction du milieu.

2° Les colorants du groupe de la Xanthone. On appelle Xanthone le composé qui renferme le noyau de γ pyrone (I) condensé avec deux noyaux benzéniques (formule II).



Les dérivés de l' α -phénylchromone ou flavone (III) sont très importants (couleurs végétales claires et fraîches).



Comme l'ont montré les travaux de KOSTANECKI et de ses élèves, les matières colorantes jaunes sont des oxydérivés de la flavone, ainsi : le jaune de Sumac, la fisétine, est une 3-7-4 tétraoxyflavone.

La Lutéoline est une 5-7-3-4 tétraoxyflavone : c'est le colorant du réséda et du peuplier.

La Rhamuétine éther 7 méthylque de la quercétine.

3° Les couleurs dérivés des tanins (couleurs foncées) dont l'étude s'identifie avec celle des tanins.

ETUDE DES TANINS.

En se basant sur leurs caractères analytiques, on peut diviser les tanins en deux groupes :

- 1° Les tanins fortement condensés
- 2° Les tanins facilement hydrolysés

1° Les tanins fortement condensés sont très nombreux ; ainsi le tanin du quebrako, la maclurine du *Mors tinctoria* dont la structure est connue, c'est une penta-oxybenzophénone, son analyse et sa synthèse ont été faits par HOERCH. Les tanins à catéchine font partie de ce groupe : c'est FREUDENBERG et ses élèves qui en ont fait l'analyse et la synthèse ; dans le Gambir, (*Uncaria Gambir*) il y a de la *d*-catéchine et son racémique. Ces couleurs foncées sont des flavanols et oxyflavanols.

Dans l'Acacia catéchu, il y a de la *l*-catéchine.

FREUDENBERG par réduction et méthylation a transformé la catéchine en pentaméthoxyphénylpropane et a obtenu la *l*-épicatechine par réduction de l'anthocyanine.

Avant FREUDENBERG, CLAUSER avait le premier obtenu de la phloroglucine en faisant bouillir 20 grammes de catéchine plusieurs heures avec 300 centimètres cubes de KOH à 10 p. 100 dans une atmosphère d'oxygène ; il avait décelé le noyau phénolique que l'on retrouve dans ces tanins.

Après CLAUSER, HLISSIWTEZ a obtenu du même tanin,

par une fonte potassique énergique avec trois parties de potasse pour une partie de catéchine, non seulement de la phloroglucine mais de l'acide proto-catéchique. Cette méthode de la fonte potassique a permis à KLEIN d'obtenir de bons résultats dans le domaine complexe de la chimie des matières colorantes végétales qui sont apparentées aux catéchines et en contiennent la molécule.

2° Les tanins hydrolysables sont plus étudiés ; il y en a plusieurs groupes d'après le noyau constitutif :

a) Les tanins ayant pour noyau l'acide lécanorique dipeptide de l'acide orsellique ;

b) Les tanins ayant pour noyau l'acide ellagique, dipeptide cyclique phénolique à 4 noyaux benzéniques.

c) Les tanins ayant pour noyau l'acide gallique.

TANINS GALLIQUES.

La fixité, la stabilité extraordinaire des tanins du groupe des tanins galliques est la cause principale pour laquelle leur constitution est restée si longtemps obscure.

Ces tanins sont hydrolysés à 100° par les acides dilués au bout de plusieurs jours : ainsi le tanin de la noix de Galle qui est un éther pentagalloyl-gallique, doit être chauffé à 100° pendant 72 heures, avec 10 parties de SO_4H_2 à 5 p. 100.

CHAPITRE IV.

Etude expérimentale physique et chimique.

Conditions de récolte du Latex.

Les divers échantillons du latex que nous avons analysés proviennent d'arbres situés sur les communes de Alaguanina et de Santa-Barbara de Heredia, à Costa-Rica. Pour l'obtenir les récoltants ont pratiqué dès l'aube les incisions faites selon la technique indiquée. Le lendemain matin, le latex a été recueilli et mis en flacon bouchés hermétiquement. Ces flacons ont été expédiés en France par bateaux sans aucune trace d'éléments étrangers ou antiseptiques (1).

Les flacons arrivés à Paris et débouchés ne présentaient aucune trace de fermentation. Plusieurs échantillons ont été mis en observation ; ils n'ont pas fermenté, ni coagulé ; après six mois à un an, seul un léger dépôt dont nous indiquerons la nature s'est produit. Ce sont des latex naturels et purs que nous avons examinés.

Préparation de l'extrait sec. — Pour isoler certains composants du latex, nous avons employé l'extrait sec dans plusieurs cas. Cet extrait sec a été préparé par évaporation lente à l'étuve à 50°, puis pulvérisé. L'extrait pulvérisé se présente sous la forme d'une poudre de teinte rouille foncée.

(1) Postérieurement à nos premières recherches, nous avons également fait récolter quelques flacons de latex en versant le latex frais dans de l'alcool bouillant et en maintenant le tout à l'ébullition ; ceci dans le but de détruire les ferments. Cette récolte a été ainsi faite pour suivre les techniques chimiques de recherches et préparations de produits catéchiques préconisées par FREUDENBERG, COSE, BRAUM et BIGGS.

I. — Caractéristiques physiques.

Couleur. — Le latex est de couleur rouge sang, couleur stable pendant un an environ. S'il se forme un précipité abondant, la couleur varie légèrement ; la couleur est en relation avec la structure du composé rouge. Après un an et demi le latex devient un peu plus foncé.

Goût. — Très astringent et amer.

Viscosité. — Le latex est fortement visqueux. Les viscosités à 20° et à 50° ont été exprimées avec l'appareil de Engler. La viscosité est la durée de l'écoulement de 200 cm³ de latex comparée à la durée d'écoulement de la même quantité d'eau.

	1 ^{er} essai	2 ^e essai
Viscosité à 20°.....	13'5	15'
Viscosité à 50°.....	10'	12'

Tension superficielle. — Elle est très faible, on peut la mettre en relief par quelques procédés empiriques. Ainsi on laisse couler un mince filet de latex, la dernière goutte est coupée et reste pendante; de même on peut former à la surface du latex une légère dépression en appliquant doucement l'extrémité du doigt. Le latex a un grand pouvoir aphrogène.

Mesure du pouvoir aphrogène. — Le latex mousse abondamment par agitation et mêlé à l'eau même salée, il a encore un grand pouvoir aphrogène.

On peut utiliser la technique suivante pour mesurer le pouvoir aphrogène du latex.

Dans des tubes à essai de contenance telle que la quantité d'eau les remplisse à moitié, on verse la quantité d'eau voulue, puis on ajoute le latex. Après une forte agitation de trente secondes (ce qui correspond à une centaine de mouvements) on laisse les tubes en repos pendant un quart d'heure, et on mesure finalement la hauteur de la mousse.

Voici mentionnée ci-dessous les hauteurs respectives de la mousse dans les essais effectués en concentration décroissante d'abord avec de l'eau distillée, puis avec une solution de 35 p. 100 de chlorure de sodium dans de l'eau distillée (ceci correspondant à la proportion de résidu fixe de l'eau de l'Atlantique).

Pouvoir aphrogène.

I. — Essais avec de l'eau distillée.

N ^o d'ordre	Latex	Eau dist.	Concentration	Haut. Mousse
1	5 cg.	5 cm ³	1/100	4 cm.
2	3 cg.	3 cm ³	1/100	4 cm.
3	2 cg.	6 cm ³	1/3000	4 cm.
4	1 cg.	4 cm ³	1/400	3 cm.
5	1 cg.	5 cm ³	1/500	3 cm.
6	1 cg.	10 cm ³	1/1000	2 cm.
7	1 cg.	20 cm ³	1/2000	2 cm.

II. — Essais avec une solution de 35 p. 100 de NaCl dans l'eau distillée.

N ^o d'ordre	Latex	Sol. NaCl	Concentration	Haut. Mousse
1	5 cg.	5 cm ³	1/100	3 cm.
2	3 cg.	6 cm ³	1/200	3 cm.
3	2 cg.	6 cm ³	1/300	2 cm.
4	1 cg.	4 cm ³	1/400	1 cm.
5	1 cg.	5 cm ³	1/500	1 cm.

Déviatiou polarimétrique.

La déviatiou polarimétrique est impossible à mesurer avec le latex pur, nous l'étudierons avec les produits que nous aurons isolés.

Examen microscopique du Latex.

On aperçoit de petites granulations réfringentes, exactement rondes ou effilées baignant dans un liquide intergranulaire.

II. — Analyse chimique du Latex.

Quoique l'étude physique du latex nous ait permis de déceler l'existence d'une substance aphrogène, nous avons cependant commencé systématiquement notre analyse chimique suivant la marche classique.

Dosage de l'eau. — Le latex évaporé à l'étuve à 50° ou dans le vide en présence d'acide sulfurique donne en moyenne 37 p. 100 de matières solides dont 0,80 p. 100 de matières minérales contenant du calcium, du potassium et des traces de manganèse, de fer et de baryum (1), nous n'avons pu y déceler la présence d'autres métaux (2).

Solubilité. — Soluble dans l'alcool à 90°, l'eau distillée lui est miscible en produisant un trouble net (3). Il est soluble dans l'acide acétique et dans l'acétone ; il est insoluble dans le sulfure de carbone, dans le chloroforme, dans l'éther et dans les solvants non oxygénés.

- (1) Gabriel BERTRAND. — Le manganèse chez les végétaux. *Rev. gén. Chim.*, 1905, 8, p. 205 ; *Bull. Soc. Chim.*, 1911, (4), 9, p. 361. — Sur l'intervention du manganèse dans les oxydations par la laccase. *C. R.*, 1897, 124, p. 1032 ; *Bull. Soc. Chim.*, 1897, (3), 17, p. 619 ; *Bull. Soc. Chim.*, 1897, (3), 17, p. 753 ; *Bull. Muséum Hist. Nat.*, 1897, (3) ; *Ann. Chim. Phys.*, 1897, (7), 12 ; *C. R. Ac. Sc.*, 1903, 137 ; *Bull. Soc. Chim.*, 1904, 31, p. 185. — Baryum et Strontium. *Bull. Soc. Chim.*, 1928, 43, p. 372. — Fer. *C. R. Ac. Sc.*, 1924, 174, p. 129.
- (2) Gabriel BERTRAND. — Le Titane dans les plantes phanérogames. *C. R. Ac. Sc.*, 1929, 188, p. 1199 ; *Bull. Soc. Chim.*, 45, p. 1044 ; *C. R. Ac. Sc.*, 1929, 189, p. 73 ; *Bull. Soc. Chim.*, 1930, 47, p. 102. — La teneur des plantes en Al. *C. R. Ac. Sc.*, 1931, 192, p. 525 ; *Bull. Soc. Chim.*, 49, p. 1417. — Présence du Co et du Ni chez les végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, 1922, 175, p. 458.
- M. JAVILLIER. — Recherches sur la présence et le rôle du zinc chez les végétaux. *Thèse de Doctorat ès Sciences Nat. Fac. Sc. Paris*. Declume, éd., Lons-le-Saunier.
- (3) DUCLAUX. — Les colloïdes. Gauthier et Villars, éd.
KOPAKZEWSKI. — Les colloïdes. Vigot, éd.
M. TAILLANDIER. — Techniques de précipitation colloïdale en vue des microdosages optiques au photomètre. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1927, 8^e série, 6, 465 ; *Thèse Pharm. Sup. Spectrophotométrie et Photométrie*. Maloine, éd., 1930.

RECHERCHE DES ALCALOÏDES PAR LES MÉTHODES CLASSIQUES.

De nombreuses expériences n'ont pas donné de résultats (1), en effet quoique les divers réactifs des alcaloïdes donnent des précipités diversement colorés, il a été impossible d'isoler un alcaloïde.

RECHERCHES DES GLUCOSIDES (2).

Nos recherches d'abord peu fructueuses nous ont permis d'isoler un glucoside dédoublable par l'émulsine (3) et par l'acide chlorhydrique dilué, glucoside ayant les propriétés physiques et chimiques des saponines.

D'autre part, dans les diverses solutions alcooliques, nous avons concentré le colorant rouge enlevé avec difficulté des autres éléments du latex. Une trace de cette matière a un grand pouvoir colorant et son oxydation à l'air libre renforce sa couleur (4). Nous verrons aussi

- (1) STASS. — Cf. Bibliographie.
DRAGENDORF. — Cf. Bibliographie.
Gabriel BERTRAND. — *Ac. sil. tung. r. des alcaloïdes. C. R.* 1899, 128, p. 742.
DENIGÈS. — *Chimie analytique*. Maloine, éd.
BOUGAULT. — *Cours Magistral Faculté Pharmacie Paris*, 1936.
A. VILLIERS. — *Précis d'Analyse Quantitative*, 1893 ; Doin, éd.
- (2) Cf. *Bibliographie et Toxicologie KOHN-ABREST et Ann. Aliment.* PELLERIN. Maloine, édité.
- (3) Em. BOURQUELOT. — Cf. Bibliographie.
- (4) Recherches sur les tanins Colorés. Cf. FREUDENBERG, *Bibliog.*
GORIS. — *C. R. Ac. Sc.*, 1907, 145, 354 ; *C. R. Ac. Sc.*, 1907, 144, 1163. — Sur le rouge de Kola. *C. R. Ac. Sc.*, 1908, 2, 1109 ; *C. R. Ac. Sc.*, 1912, 1, 266.
GORIS et FLUTEAUX. — *C. R. Ac. Sc.*, 1910, 2, p. 1933.
BERNEGAT. — *Studien Über die Kolanus. Ber. d. d. Pharmac. Gesell.*, 1908, 18, 490 ; *Beilsteins Handbuch Der Organischen Chem.*, 1934, 17.
Voir sur les Chromogènes :
Gabriel BERTRAND. — Sur la coloration des tissus et du suc de certains champignons au contact de l'air (avec Em. BOURQUELOT). *Journ. Pharm. et Chim.*, 1896, (6), 3, p. 177. — La coloration du jus de betterave et les ferments solubles oxydants. *Bull. Ass. Chim.*, 1896, 14, p. 19. — Recherches sur la mélanogénèse. *Bull. Soc. Chim.*, 1908, (4), 3, p. 335 ; *Ann. Inst. Pasteur*, 22, p. 381. — Sur un nouveau chromogène cristallisé, l'esculétol, retiré du marronnier d'Inde. *C. R.*, 1924, 178, p. 1233.

que si on met à l'air libre une trace de colorant restée sur la matière sucrée et conservée sous l'éther anhydre, cette parcelle devient rouge et peut colorer toute la masse.

Extraction des Hétérosides saponiniques ou Saponosides.

Si l'on verse dans une solution alcoolique de Targwa (et de préférence une solution faite dans l'alcool méthylique) de l'éther en excès, on voit se précipiter des grumeaux blancs qui après décantation de la solution éthéro-alcoolique et l'enrichissement du milieu en éther, deviennent de plus en plus abondants et déposent.

Il faut avoir soin que le sédiment ne prenne contact avec l'air qu'après de nombreux lavages à l'alcool éthéré, sinon il se colore en rouge. Une trace de la matière colorante oxydée par simple contact à l'air, ayant, comme nous l'avons dit plus haut un grand pouvoir colorant.

Nous avons isolé avec un bon rendement le composé insoluble en épuisant au moyen de l'appareil de Soxhlet le Targwa sec, par un mélange éthéro-alcoolique contenant 1/3 d'alcool et 2/3 d'éther d'abord, puis de plus en plus riche en éther. On voit la poudre se décolorer peu à peu ; la matière colorante est entraînée par l'alcool et il reste une poudre blanchâtre douce au toucher et de goût acre, soluble dans l'eau et dont la solution aqueuse mousse abondamment par agitation. La solution est lévogyre et par ébullition prolongée, elle réduit la liqueur de Felhing.

ESSAIS DE CARACTÉRISATION CHIMIQUE.

Ce résidu que nous désignerons provisoirement sous le nom de saponine est mis en solution dans l'eau distillée, puis traité par l'acétate neutre de plomb en excès. Il s'y forme un précipité de « Saponine acide » mêlée d'oxyde

de plomb (1). On filtre et le filtrat est traité par l'acétate basique de plomb en excès qui produit un nouveau précipité renfermant la saponine neutre accompagnée de plomb.

Ces deux précipités sont alors lavés pour éliminer l'excès d'acétate de plomb et mis en suspension dans de l'eau distillée, puis soumis à l'action d'un courant d' H_2S , afin de rendre insoluble le plomb à l'état de sulfure, (on prend soin pour éviter la mousse de recouvrir la surface des liquides d'une mince couche de benzine). On filtre et on obtient ainsi deux solutions de saponine colorées en jaune pâle qu'on porte à ébullition jusqu'à élimination totale d' H_2S . On évapore enfin au bain-marie jusqu'à siccité. Le rendement en saponine est faible.

RECHERCHE SUR LES CARACTÈRES SPÉCIFIQUES DES DEUX COMBINAISONS PLOMBIQUES.

Les réactions précédentes ont montré que :

1° L'acétate neutre de plomb a précipité de la solution de saponine brute, une saponine dite habituellement saponine acide, jusqu'à ce qu'un excès de ce réactif ne donne plus de précipité.

2° L'acétate basique de plomb en excès produit de nouveau un précipité.

Si on lave séparément ces précipités, et qu'on en sépare le plomb par un courant d'hydrogène sulfuré, on a deux poudres. A l'hydrolyse par l'acide chlorhydrique, la première et la seconde poudre donneront les mêmes sucres (glucose et xylose) et deux sapogénines ayant les réactions des terpènes, chacune d'elle étant douée d'un pouvoir hémolysant qui est diminué par la cholestérine. Elles ont le même pouvoir aphrogène, la même viscosité, le même pouvoir polarimétrique, elles réagissent

(1) Les expressions habituelles « Saponine neutre » et « Saponine acide » sont des termes imprécis ainsi qu'il sera exposé plus loin.

d'une façon identique aux sels de plomb, elles sont précipitées totalement par l'acétate neutre ; elles semblent donc identiques.

Ces observations amènent à la conclusion que les saponines ne seraient pas libres dans les milieux végétaux, mais à l'état de combinaisons organiques d'affinités très faibles avec les tanins, les sels minéraux, les sucres (ici avec les produits catéchiques). De là le fait de leurs précipitations fractionnées par les sels de plomb (fait analogue avec les albumines).

Dans le latex étudié on peut donc dire qu'il y a :

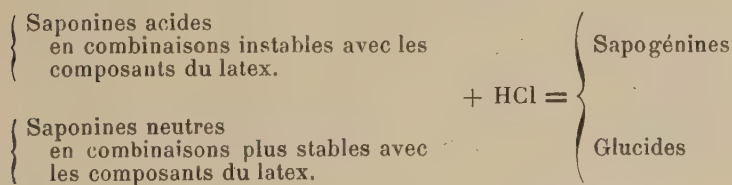
1° Des saponines acides au acides saponiniques, non complètement combinées au salifiées avec les éléments présents, facilement précipitables par l'acétate de plomb, facilement précipités par l'éther.

2° Des saponines fortement et complètement salifiées par les éléments organiques présents.

Ce sont les saponines neutres, appelées encore saponosides, précipitées par le sous-acétate de plomb, incomplètement précipitées par l'éther.

Ces deux groupes traités par l'acide chlorhydrique, sont hydrolysés et donnent des glucides et une sapogénine terpénique ; on peut donc établir le schéma suivant :

Dédoublément des saponines du Latex.



CARACTÉRISATION DU PRODUIT EXTRAIT.

Nous avons remarqué que la poudre blanche obtenue est soluble dans l'eau, que sa solution aqueuse mousse abondamment par agitation et que cette solution est lévo-

gyre, nous l'avons donc traitée par les méthodes suivantes :

1° ESSAI PHYSIOLOGIQUE (1). — On découpe trois ou quatre bandes de papier filtre de 5 mm. sur 10 cm. qu'on imbibe par capillarité jusqu'à mi-hauteur (en laissant tremper juste leur extrémité inférieure) d'une solution constituée par la saponine à caractériser, dissoute au préalable dans 4 ou 5 cm³ d'eau distillée. Ces bandes une fois sèches, sont posées à plat sur des lamelles porte-objets et recouvertes de gélatine au sang fraîchement préparée. On recouvre la première lamelle et la préparation d'une seconde lamelle et on observe le phénomène d'hémolyse, au bout d'un temps qui peut varier de quelques minutes à quelques heures. Ayant observé cette propriété au bout de quelques heures, nous avons conclu à la présence d'une saponine.

Voici d'ailleurs la technique de la préparation de la gélatine au sang :

2 g. de gélatine blanche et coupée menue sont mis en contact pendant deux heures dans 200 cm³ d'eau froide, puis chauffés légèrement jusqu'à 40°. Après dissolution, on ajoute 0,85 p. 100 (1 g.,70) de NaCl puis un tiers environ de blanc d'œuf. On fait bouillir une demi-heure et on filtre sur du coton. On neutralise avec une solution de carbonate de soude à 2 p. 100 en présence de tournesol et quand la température est à 35° on ajoute 3 p. 100 de sang défibriné (KOFLER, FISCHER, NEWSELY). Cette gélatine au sang se prenant en masse par refroidissement, il est recommandable de s'en servir immédiatement pour lui conserver sa fluidité.

2° ESSAIS CHIMIQUES APRÈS HYDROLYSE. — On hydrolyse par l'acide chlorhydrique dilué (2) et par ébullition

(1) KOFLER (L.), FISCHER (R.), NEWSELY (H.) — Ueber den Nachweis von Saponinen in Arzneimitteln und Lebensmitteln. *Arch. der Pharm.*, 1929, 267, p. 685-699.

(2) KOFLER et DAER. — Cf. Bibliographie.
WINDAUS. — Cf. Bibliographie.

pendant plusieurs heures. Pendant l'hydrolyse les sucres sont caractérisés grâce aux réactions colorées obtenues par les naphthols, selon les techniques de MOLISCH et de DENIGÈS ; les pentoses et un certain nombre de sucres ont été recherchés et caractérisés par les méthodes de M. Gabriel BERTRAND ; enfin par les préparations d'osazones, les sucres ont été identifiés.

a) *Réactions colorées de MOLISCH et de DENIGÈS.*

Le mode opératoire pour effectuer cette diagnose est le même dans tous les cas, qu'il s'agisse d'hexoses ou de pentoses, ou d'un mélange des deux. On met dans un tube à essai 0 cm³,1 de solution aqueuse à 1 p. 100 du sucre à essayer puis, soit 2 cg. environ de naphtol et 1 cm³ d'alcool à 90°-95°, soit, mieux encore, 1 cm³ d'une solution de 2 grammes de naphtol dans 100 cm³ d'alcool au même titre. Après dissolution si l'on a employé le naphtol en nature, immédiatement si l'on est servi de sa solution alcoolique, on ajoute 2 cm³ d'acide sulfurique concentré pur, de densité 1,84. On secoue légèrement le tube et on examine aussitôt le contenu. On a observé d'abord en utilisant le naphtol α , une coloration grenadine puis rouge; ensuite, après une heure de contact, on a obtenu finalement une coloration violet-bleue.

b) *Réactions furfuroliques (1).*

1° Ajouter à 5 cm³ d'acide chlorhydrique pur, une trace d'orcine et 1 cm³ de la solution sucrée. Chauffer lentement jusqu'à commencement d'ébullition ; il se développera une coloration d'un violet-bleu qui peut être rassemblée par l'alcool amylique.

2° Dans un petit ballon, chauffer à l'ébullition 5 cm³ de la solution sucrée avec 5 cm³ d'acide chlorhydrique concentré et plonger dans la vapeur qui se dégage une bande de papier sur laquelle on aura déposé une goutte

(1) BOEYER (A). — *Lieb. Ann.*, 1872.

DENIGÈS. — Chimie analytique. Maloine, éd., Paris.

de solution d'acétate d'aniline fraîchement préparée. L'acétate d'aniline se colorera en rouge vif.

3° Dans un tube à essai, porter à l'ébullition 5 cm³ de réactif de BIAL, éloigner la flamme et ajouter de suite (pour ne pas laisser refroidir) cinq gouttes de la solution sucrée. Il se produira une coloration verte.

Le réactif de BIAL comporte :

{ Acide chlorhydrique pur	500 cm ³
{ Orcine	1 gr.
{ Perchlorure de fer officinal	25 gouttes.

c) *Réactions de Gabriel BERTRAND pour la caractérisation des sucres (1).*

La technique d'une réaction intéressante pour la diagnose et la différenciation des sucres hexoses et pentoses, a été décrite par M. Gabriel BERTRAND pour la première fois en 1891. En 1872, BOEYER avait montré qu'un milieu sucré traité par de l'acide chlorhydrique et de l'orcine se colorait diversement suivant les sucres. M. G. BERTRAND a montré que les pentoses se colorent en bleu-violet et les hexoses en rouge vif sous l'action de l'acide chlorhydrique et de l'orcine et qu'on peut ainsi les différencier.

Pour avoir des réactions nettes certains détails de technique sont à observer : le mélange des sucres et des réactifs doit être chauffé à température modérée, de préférence entre 40° et 50° et en utilisant de l'acide chlorhydrique à 22° baumé. Les pentoses donneront leur coloration et même un *précipité* après un temps de chauffage modéré plus long que pour obtenir la coloration caractéristique des hexoses.

Pour obtenir les réactions nous avons d'abord mesuré le pouvoir réducteur de nos solutions sucrées (obtenues

(1) Gabriel BERTRAND. — Sur une nouvelle réaction des Pentoses. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, p. 436. — Le Xylose ou sucre de bois. *Th. Fac. Pharm. de Paris*. — Recherches sur quelques dérivés du Xylose. *Bull. Soc. Chim.*, 1891, (3), 5, p. 554 et 740. — Détermination spécifique du Xylose. *Bull. Soc. Chim.*, 1892, 7, p. 499.

par hydrolyse) au moyen de la méthode classique à l'oxyde de cuivre et nous les avons concentrées de façon qu'elles contiennent 1 p. 100 de sucres réducteurs totaux. Nous les avons clarifiées au noir animal et filtrées soigneusement.

A cette concentration de 1 p. 100, une coloration rouge apparaît, se ternit et se précipite ; en continuant de chauffer, la coloration tourne peu à peu au violet foncé. La coloration et le précipité bleu-violet ont été obtenus plus nettement avec des solutions sucrées à 0 g.,25 p. 100, en chauffant au bain-marie et avec un acide chlorhydrique dédoublé.

d) *Séparation des sucres par fermentation.*

Les réactions précédentes décelant la présence de deux sucres, le glucose et le xylose, la séparation biochimique de ces deux sucres a été réalisée par fermentation : en effet KOCK, puis Em. BOURQUELOT et Gab. BERTRAND ont étudié la fermentation du xylose et montré que le xylose soumis à l'action de la levure de bière ne subit pas la fermentation alcoolique (1).

Nous avons donc mis en réaction une solution à 10 p. 100 du mélange des deux sucres présents ; la fermentation étant achevée le milieu a été filtré, clarifié au noir animal et au charbon absorbant Urbain, évaporé au bain-marie pour chasser l'alcool et l'eau.

Le résidu a été repris par l'alcool absolu ; après évaporation on obtient une poudre sur laquelle les essais suivants ont été faits :

1° Une parcelle de poudre chauffée légèrement avec l'acide chlorhydrique et l'orcine donne une coloration violet-bleu.

2° *Essais de cristallisation.* — La poudre est reprise par l'eau et filtrée, on évapore jusqu'à siccité après avoir

(1) BOURQUELOT (Em.). — Etude sur la fermentation de deux sucres. *Ann. Chim. Phys.*, 6^e s., t. 9.

Gabriel BERTRAND. — Le Xylose ou sucre de bois. *Th. Pharm. Sup. Fac. Pharm. Paris.*

amorcé la cristallisation avec une parcelle de xylose cristallisée. On reprend par l'alcool absolu tiède et on délaie le résidu sirupeux tiède dans l'alcool tiède ; on laisse au repos, on décante la solution alcoolique froide pour la séparer du dépôt formé et on l'évapore à consistance sirupeuse, on obtient alors une masse cristalline faite de cristaux naviculaires courts.

Essais de solubilité. — 50 cm³ d'eau sont mis en contact pendant plusieurs jours avec la poudre cristalline en excès (environ 3 g.,50) on agite fréquemment, après six jours de contact on filtre et on évapore : cinquante grammes de la solution contiennent 1 g.,50 de poudre cristalline. L'expérience a été faite dans une étuve à 20°.

3° *Pouvoir rotatoire.* — La solution préparée précédemment, contenant pour 50 cm³ de solution, 1 g.,50 de poudre cristalline est versée dans un tube de 22 cm., la température étant de 18°, on a obtenu une déviation dextrogyre de :

$$\alpha_D = \frac{4.08 \times 30 \text{ cm}^3,1}{2,99 \times 2,2} = + 18.5$$

4° *Formation du Xylono-bromure de cadmium.* — La réaction à l'orcine est extrêmement sensible mais elle est commune à d'autres pentoses, au contraire la production du xylono-bromure de cadmium est caractéristique du xylose. Voici comment on le prépare : une parcelle de xylose est introduite dans un tube à essai avec 2 cm³ d'eau saturée de brome, on laisse en contact pendant 24 heures, on porte à l'ébullition pour chasser l'excès de brome, on sature par une pincée de carbonate de cadmium et on filtre, on concentre à 1 cm³ dans un verre de montre, on ajoute 1 cm³ d'alcool et au bout de quelques minutes de frottement et d'agitation il se fait un précipité de xylono-bromure de cadmium en aiguilles prismatiques, solubles dans l'eau pure, pratiquement insolubles dans l'alcool faible (1).

(1) G. BERTRAND. — *Bull. Soc. Chim.*, 6, p. 161, 259 ; 5, p. 554.

5° *Préparation de l'osazone du xylose.* — Dans un tube à essai, on met 1 cm³ de solution sucrée à 0 g.,5 p. 100, 3 cm³ d'acide acétique, 1 cm³ de phénylhydrazine liquide et 1 cm³ d'une solution de bisulfite de sodium à 36°-40° Baumé ; on met dans un tube à essai volume égal de ce réactif et de la solution sucrée, on mélange et on porte au bain-marie bouillant pendant une heure. Il se produit une légère coloration jaune ; on laisse refroidir, après trois ou quatre heures apparaît un léger sédiment cristallin. Examiné au microscope ce sédiment montre de belles aiguilles cristallines jaunes d'or, fondant à 160° au bloc de Maquenne.

Séparation des sucres contenus dans le liquide d'hydrolyse par leurs osazones. — Dans le but de compléter l'identification des sucres présents dans le liquide d'hydrolyse, leurs osazones ont été préparées : deux dihydrazones ont été obtenues avec la phénylhydrazine en milieu acétique.

Le réactif a été préparé en ajoutant à 20 cm³ de la solution acéto-acétique (préparé avec acétate de soude 10 g., acide acétique 5 cm³ et eau 100 cm³) 3 cm³ d'acide acétique cristallisable, 1 cm³ de phénylhydrazine liquide et 1 cm³ d'une solution de bisulfite de sodium à 36°-40° Baumé.

On met dans un tube à essai volume égal de ce réactif et de la solution des sucres, on mélange et on porte au bain-marie pendant une heure ; il se produit une légère coloration jaune, on laisse refroidir. On obtient de belles aiguilles jaunes d'or libres ou groupées en faisceaux ; elles sont soumises à un lavage à l'eau distillée jusqu'à ce que cette eau de lavage passe incolore ; ces aiguilles sont séchées sur filtre et sur pierre poreuse. Leur point de fusion pris au bloc de Maquenne montre qu'une partie des magmats cristallins commence à fondre à 145°, est fondue totalement à 160° mais à cette température il reste encore des cristaux jaunes qui fondent seulement à 230°.

Il y a donc dans la poudre cristalline un mélange de deux espèces de cristaux de points de fusion différents ; en se reportant aux tables des points de fusion des osazones, on constate que ces points de fusion sont ceux de la combinaison de la phénylhydrazine avec le xylose d'une part et avec le glucose d'autre part.

Si l'on traite la poudre cristalline par l'acétone diluée avec de l'eau distillée à parties égales, si on filtre et évapore doucement l'eau acétonée, celle-ci donne après évaporation de fines aiguilles. D'autre part une quantité importante des cristaux jaunes n'a pas été dissoute et ceux-ci examinés au microscope se montrent composés surtout de faisceaux d'aiguilles. Il y a donc dans la poudre cristalline deux espèces de cristaux de solubilité différente. Cette différence de solubilité peut être encore mise en évidence par l'expérience suivante : l'osazone du xylose qui se présente sous forme de fines aiguilles est soluble dans l'eau bouillante, très soluble dans l'éther, dans l'acétone, dans l'alcool méthylique tandis que l'osazone de glucose qui se présente sous forme d'aiguilles groupées en faisceaux est insoluble dans les solvants ci-dessus. Il est facile de caractériser dans chacune des osazones séparées ainsi par voie physique, les deux sucres qui y sont combinés.

CARACTÉRISATION DES GLUCOSIDES PAR LA MÉTHODE DE BOURQUELOT (1). APPLICATION A L'ÉTUDE DES SAPONINES.

On prépare d'abord l'émulsine ; pour cela, piler au mortier 100 grammes d'amandes douces préalablement mondées après un séjour de une minute dans l'eau bouillante. Les mettre à macérer pendant vingt quatre heures dans un mélange à volume égal d'eau distillée et d'eau chloroformée dont on prendra 200 g. pour 100 g. d'aman-

(1) BOURQUELOT (Em.). — Journ. de Pharm. et de Chim., 1906, t. 24. — Exposé des travaux. Declume, éd., Lons-le-Saunier, 1897. — Ferments solubles, *Fac. Pharm. Paris*, vol. 14938, 14939, 22435. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1914, t. 10.

BOURQUELOT et BRIDEL, — *Ann. Phys. et Chim.*, 1913, vol. 28.

des. On passe avec expression sur une étamine mouillée et on recueille 150 à 200 cm³ de liquide. On ajoute X gouttes d'acide acétique pur, on filtre sur du papier mouillé et on recueille 120 à 130 cm³ auxquels on ajoute 500 cm³ d'alcool à 95°. On recueille le précipité sur un filtre sans plis ; on le laisse égoutter, on le lave avec un mélange à volumes égaux d'alcool et d'éther. Finalement on le dessèche dans le vide sulfurique.

Pour appliquer les enzymes réactifs ainsi préparés on prend 250 g. du suc de plante frais ou sec (1) qu'on projette peu à peu dans l'alcool à 95° maintenu à l'ébullition au bain-marie.

Quand toute la prise d'essai a été introduite dans le ballon, on adapte à ce dernier un réfrigérant à reflux, et on maintient encore l'ébullition pendant une vingtaine de minutes. On laisse refroidir et on filtre ; le filtrat est additionné d'un petit excès de CO₃Ca précipité pour neutraliser les acides, on distille sous pression réduite pour éliminer l'alcool et on reprend le résidu par Q. S. d'eau thymolé saturée pour obtenir 250 cm³ de ce liquide. On filtre.

On partage cette solution en deux portions : l'une A de 50 cm³ servira de témoin, l'autre B de 200 cm³.

On introduit ces liquides dans de petites fioles pouvant être fermées solidement avec un bouchon de liège. A la solution B on ajoute l'enzyme, 0 g.,20 d'émulsine, et on porte les deux fioles dans l'étuve dont la température est réglée à 25°-30°. Au bout de deux jours, on fait un premier essai en prélevant dans les deux fioles 20 cm³ de liquide, ajoutant 4 cm³ de sous-acétate de plomb et on filtre.

Le filtrat permet de déterminer les valeurs rotatoires et réductrices des deux liquides. Par différence on a celles qui correspondent aux produits hydrolysés. Ces valeurs permettent de se rendre compte en connaissant

(1) Si on utilise le latex desséché on l'emploiera dans la proportion où il se trouve dans le latex frais, c'est-à-dire 35 p. 100.

les constantes optiques et réductrices avant et après hydrolyse du produit hydrolysé pur s'il y a concordance entre ces constantes et les résultats donnés par le calcul appliqué aux valeurs optiques et aux valeurs réductrices. On peut s'assurer ainsi si le produit hydrolysé correspond bien à celui qu'on recherche.

En ce qui concerne les glucosides hydrolysables par l'émulsine, BOURQUELOT a proposé d'appeler indice de réduction enzymolytique le poids en milligrammes de produits réducteurs exprimés en glucose, formés dans 100 cm³ sous l'influence de l'émulsine, pour une déviation de 1 degré polarimétrique, observé à l'aide du tube de 2 décimètres.

Pour notre saponoside, nous avons observé un pouvoir réducteur plus élevé et une déviation polarimétrique accentuée à droite après action de l'émulsine.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau ci-après :

Tableau des mesures polarimétriques et du dosage des substances réductrices avant et après l'action de l'émulsine.

AVANT L'ACTION DE L'ÉMULSINE.	
Pouvoir réducteur (sur la liqueur cupro-alkaline de M. G. BERTRAND)	30 mg. p. 100 cm ³
(exprimé en glucose)	
Degré polarimétrique	+ 10°5
APRÈS L'ACTION DE L'ÉMULSINE.	
Pouvoir réducteur (sur la liqueur cupro-alkaline de M. G. BERTRAND).	79 mg. p 100 cm ³
(exprimé en glucose)	
Degré polarimétrique	+ 22°

DOSAGE DES SUCRES PRÉSENTS (1).

Si avant la fermentation alcoolique du mélange sucré, la mesure du pouvoir réducteur du mélange a été faite,

(1) Les dosages des deux sucres par la méthode de la fermentation alcoolique ont été réalisés sur les mélanges sucrés les plus riches, obtenus par hydrolyse acide.

et si après cette fermentation on mesure le pouvoir réducteur du xylose, on obtient par différence celle du glucose. On a ainsi dosé les deux sucres ; les chiffres suivants ont été trouvés, pour 100 g. de latex :

Sucres totaux	5 g.,50	(chiffre moyen de 3 dosages)
Xylose	1 g.,10	(id.)
Glucose	4 g.,40	(id.)

le même calcul sera fait pour la déviation polarimétrique, les chiffres suivants ont été trouvés :

Sucres totaux	5 g.,20	(chiffre moyen de 3 dosages)
Xylose	0 g.,95	(id.)
Glucose	4 g.,25	(id.)

CARACTÉRISATION DU PRODUIT AGLUCONIQUE RÉSULTANT DE L'HYDROLYSE DE LA SAPONINE.

La solution contenant l'acide chlorhydrique, et les produits d'hydrolyse de la saponine sont traités par la phénylhydrazine pour en séparer les sucres, puis l'hydrolyse est continuée pendant 12 heures et on s'assure qu'aucun sucre n'est apparu de nouveau ; puis la solution est évaporée, et un léger précipité blanc apparaît : ce précipité est peu soluble dans l'eau bouillante, soluble dans l'acide chlorhydrique, l'acide acétique, l'acétone, le chloroforme, l'alcool. Sa solution acétonique n'a pas de pouvoir rotatoire. Il ne fermente pas par la levure de bière, il se colore en rouge par l'acide sulfurique, il donne la réaction de PETTENKOFER.

En résumé, les propriétés physiques de la poudre glucosidique insoluble dans l'éther sont les suivantes : cette poudre est soluble dans l'eau en donnant une solution trouble et mousseuse.

De saveur sucrée, elle laisse ensuite une sensation de picotement. La solution aqueuse dévie à droite la lumière polarisée.

Les propriétés chimiques de la poudre blanche insoluble dans l'éther montrent que cette poudre est un saponoside composé d'un pentose : le xylose ; d'un hexose :

le glucose ; et d'un reste agluconique ayant les réactions des terpènes.

Le reste agluconique a été caractérisé de la façon suivante :

Après hydrolyse il faut évaporer presque à sec, en refroidissant le liquide se trouble, on l'épuise par le chloroforme. Par évaporation on obtient une poudre peu soluble dans l'eau, plus soluble dans l'alcool, très soluble dans le chloroforme. Cette poudre donne la réaction colorée dite de PETTENKOFER (avec l'acide sulfurique). Cette poudre soumise longtemps à l'hydrolyse acide ne produit aucune matière ayant les caractères des sucres, son analyse élémentaire montre qu'elle est composée seulement de carbone et d'hydrogène.

Etude et analyse de la matière rouge.

Le mélange alcool-éther qui a servi à épuiser le latex séché et pulvérisé dans l'appareil de Soxhlet est fortement coloré en rouge ; si on distille sous pression réduite, ou mieux si on évapore dans le vide un tel mélange, on obtient une masse rouge sombre, d'abord molle mais se durcissant rapidement, ressemblant à certains cachous ou à certains kinos, âcre au goût, colorant la salive, soluble dans l'alcool, peu soluble dans l'eau bouillante, soluble en partie dans l'acétone et dans l'éther.

Si on filtre et évapore les solutions acétoniques et éthérées qui ont épuisé le résidu rouge, on obtient dans les deux cas une poudre cristalline brun clair faite de petits cristaux en aiguilles, groupés en étoile et en faisceaux, poudre contenant des impuretés brunes. Cette poudre solubilisée dans l'acétone peut être décolorée par le noir animal et le produit de l'évaporation de cette solution clarifiée est fait de fines aiguilles transparentes mais qui se colorent peu à peu pour devenir après trois ou quatre heures de la même couleur brun-clair que présentait la poudre avant sa décoloration par le noir animal. Ce sont ces cristaux qui ont été soumis à l'analyse.

1° CARACTÈRES PHYSIQUES DU PRODUIT NATUREL CRISTALLISÉ.

Si on examine au microscope le produit, on voit qu'il est composé de fines aiguilles groupées en faisceaux et en étoiles, il contient également de rares cristaux carrés et épais.

Ces petites aiguilles s'effleurissent peu à peu et au bout de cinq à six heures, une partie est transformée en poussières brunes. L'examen polarimétrique en solution aqueuse acétonée montre que le produit est légèrement dextrogyre.

On a trouvé $[\alpha]_D = + 17^\circ$ (à 15 degrés cg.) (en solution à 9 p. 100 dans un mélange d'acétone et eau distillée à parties égales).

En solution aqueuse ou alcoolique la déviation polarimétrique est encore plus faiblement dextrogyre :

On a trouvé $[\alpha]_D = + 0^\circ 12$ (à 15 degrés cg.).

La détermination de son point de fusion au bloc de Maquenne a donné les résultats suivants :

Pour 3 essais, point de fusion (moyen).....	92°
Pour 3 autres essais, point de fusion (moyen).....	93°
Point de fusion du produit sec.....	169°-170°

Notons que dans la mesure de l'eau de cristallisation, tous les résultats donnent 4 molécules d'eau pour 1 molécule de produit hydraté (1).

2° CARACTÈRES CHIMIQUES DU PRODUIT NATUREL CRISTALLISÉ.

1° *Essais qualitatifs.* — Le perchlorure de fer donne avec la solution aqueuse du produit cristallin une coloration et un précipité verts.

L'eau bromée donne un précipité blanc.

(1) Après l'analyse centésimale et l'établissement de la formule du produit, il a été possible de calculer facilement que chaque molécule de corps cristallisé et pur ($C_{15}H_{14}O_6$) contient 4 molécules d'eau (4 H_2O).

Le réactif de MILLON donne un précipité rouge.

Le réactif de BOUCHARDAT donne un abondant précipité brun.

2° *Recherches sur la structure du produit.* — Les réactions ci-dessus étant celles de groupes phénoliques, les essais ont été commencés par la fusion alcaline.

ANALYSE PAR FUSION ALCALINE.

Remarques générales.

La fusion à la potasse caustique exige une température moindre que celle à la soude ; mais la potasse n'agit pas toujours comme la soude caustique ; de plus la température employée a également de l'influence.

Autrefois on n'effectuait la fusion qu'en creusets d'argent chauffés directement ; on opérera plus commodément suivant LIEBERMANN (1) en employant des capsules en nickel pour la fusion à la potasse caustique.

La capsule est placée dans l'anneau d'un bain-marie en cuivre, se rapprochant de l'appareil à dessiccation constante de VICTOR MEYER.

Une certaine longueur de tuyau, fixé au couvercle du bain-marie, permet de fixer le tube réfrigérateur. Le bain-marie est garni de substances à point d'ébullition élevé tel que la naphthaline (218°), l'anthracène, l'anthraquinone ; cela permet d'effectuer la fusion à température constante (au point d'ébullition de ces substances). On peut abandonner la fusion à elle-même sans agiter.

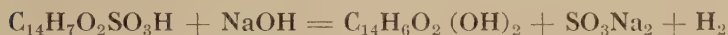
Si les substances à fondre sont solubles dans l'eau, on les y dissout dans la plus petite quantité d'eau possible et on y ajoute l'alcali ; on emploie en alcali jusqu'à 15 fois le poids de substance.

Lors de la fusion aux alcalis, il y a à côté d'autres réactions, une oxydation avec dégagement simultané d'hydrogène, quand la température s'élève suffisamment. BARTH

(1) LIEBERMANN. — *Ber.*, 21, 2528 ; *J. B.*, 1874, 901.

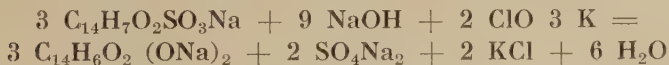
et SCHREDER (1) ont démontré qu'en fondant le phénol avec 6 fois la quantité de soude caustique, on constate que le phénol sodique formé surnage en couche huileuse sur la soude fondue, et pendant longtemps, même à température élevée. Peu à peu il y a un léger boursoufflement et dégagement d'hydrogène ; la masse se colore en brun. Au bout d'un certain temps la mousse baisse, on cesse de chauffer et on verse dans une solution d'acide sulfurique dilué, on filtre et après avoir laissé refroidir, on épuise le liquide à l'éther, on retire l'oxybenzol (souvent phloroglucine) ; ainsi le résultat de la fusion a été une oxydation.

L'hydrogène qui se dégage est très défavorable pour les effets d'oxydation ; ainsi la transformation par la soude de l'acide anthranilique monosulfoné en bioxyanthraquinone donne :



L'hydrogène agit ensuite comme réducteur et transforme une partie des oxyanthraquinones formés soit en anthraquinones, soit même en hydrures.

KOCK a observé que l'addition de substances oxydantes élimine cet inconvénient ; l'une des substances oxydantes les meilleures est le chlorate de potasse. En partant de l'acide anthraquinone monosulfoné on obtient de l'alizarine (bioxyanthraquinone) avec un rendement théorique ; la réaction est la suivante :



La durée de l'opération est de deux jours à 160° en agitant. TIEMANN et REIMER ont oxydé les acides aldéhydosalicyliques par fusion modérée avec la potasse caustique. Ils ont obtenu facilement de l'acide phénoldicarbonique. Ils ont employé une partie d'acide orthoaldéhydosalicylique et 10 parties de potasse. On chauffe 6

(1) BARTH et SCHREDER. — *Ber.*, 12, 413.

minutes, on laisse refroidir, on dissout dans l'eau, on ajoute HCl qui précipite l'acide phtalique, on extrait le reste à l'éther. On voit donc ici encore que le noyau du benzol est plus difficile à hydrogéner que tout noyau multiple. La différence d'action de la potasse et de la soude peut être montrée par la synthèse de l'acide salicylique de KOLBE dans laquelle le phénol sodique donne de l'acide salicylique et le phénol potassique de l'acide paraoxybenzoïque.

Séparation et caractérisation des phénols (1). — Les produits résultant de la fusion alcaline ont la réaction des phénols, la caractérisation en sera faite par la préparation de leurs éthers. La masse résultant de la fusion est d'abord lavée à l'éther de pétrole, puis soumise à l'extraction par l'éther. On évapore la solution éthérée et l'essai suivant est réalisé : Mettre dans un tube à essai 1 g. environ de résidu, puis 5 cm³ d'alcool méthylique et de la potasse en quantité équimoléculaire, puis un excès d'iodure de méthyle, on scelle le tube et on chauffe au bain-marie bouillant pendant 2 heures. On précipite par l'eau, l'éther insoluble est lavé avec une solution alcaline qui dissout les phénols non éthérifiés. Le composé insoluble obtenu dans la cuve à eau est l'éther méthylique du phénol traité (ou des phénols traités).

Caractérisation des éthers. — A l'ouverture du tube à essai il est facile de percevoir une forte odeur de gaïacol (éther monométhylique de la pyro-catéchine) (2). La partie insoluble séchée fond presque totalement à 32°, (le

(1) BOUGAULT (J.). — Cours Magistral Fac. Pharm. Paris.

LEBEAU et COURTOIS. — Traité de Pharm. Chim. Bibl. Fac. Pharm. Paris.

(2) La marche de la réaction s'étant poursuivie normalement, une plus grande quantité d'éther a été préparée ; remarquons au sujet de la marche de cette réaction que tous les phénols, sauf les cryptophénols sont solubles dans les solutions alcalines étendues ; ils partagent cette propriété avec les acides organiques solubles dans les bicarbonates alcalins (ce qui n'est pas le cas pour les phénols). La pyrocatéchine par addition de soude est transformée en pyrocatéchine monosodée, puis elle est méthylée par le sulfate de méthyle. On a alors un mélange de mono et de di-éther contenant encore de la pyrocatéchine ; celle-ci soluble

résidu obtenu par l'extraction étherée ne fond brusquement qu'à une température beaucoup plus haute); traitée par la lessive de soude, la partie insoluble se dissout presque entièrement. La solution sodique présente tous les caractères du gaïacol sodique ; il est facile d'en extraire par l'éther le gaïacol pur, fondant à 32° et donnant par le perchlorure de fer en milieu alcoolique une belle coloration bleue.

Le gaïacol sera également extrait à l'état pur par distillation fractionnée du contenu de la cuve à eau contenant les éthers méthyliques ; on y verse de l'acide sulfurique et on recueille le distillat qui passe entre 200° et 210°. Les recherches sont poursuivies sur le résidu de distillation.

Caractérisation de la phloroglucine. — Le résidu de distillation est lavé soigneusement à l'éther de pétrole qui dissout très peu de phénol, puis épuisé plusieurs fois à l'éther ; les solutions étherées sont purifiées au noir animal et évaporées, on obtient un composé blanc donnant les réactions générales des phénols, il fond à 215°-217°.

On le dissout dans l'eau, on ajoute une solution de nitrite de soude et une solution de nitrate d'aniline, il se produit un précipité rouge cinabre (benzène-azophloroglucine).

Ce composé blanc additionné de vanilline et d'acide chlorhydrique donne une coloration rouge (Réaction de GUNZBOURG). Il donne un éther tri-acétique et avec l'hydroxylamine il donne un trioxime (1).

dans l'eau est éliminée et on sépare l'éther en utilisant sa solubilité dans la soude. Il est à remarquer que bien que les phénols insolubles dans l'eau soient entraînés en solution en présence de la soude, leur liaison avec cet alcali n'est pas tellement étroite qu'elle ne puisse être dissociée partiellement par agitation avec un dissolvant neutre non miscible à l'eau et c'est là une différence avec les acides ; ainsi une solution d'acide benzoïque dans la soude ne cède pas trace de cet acide à l'éther, avec les phénols il y a partage entre la dissolution de soude et les dissolvants neutres, le coefficient variant avec les phénols.

(1) FRANÇOIS. — Manipulation de Chimie analytique. Le François, éd., Paris, 1931.

Dosage des deux phénols caractérisés. — Dans le but d'établir les proportions entre les deux phénols décelés, nous avons fait leur dosage. Partant d'un poids connu de substance naturelle cristalline, nous en avons fait la méthylation, la séparation par distillation et nous avons dosé les éthers des phénols par la méthode de ZEISEL.

Principe de la méthode. — On transforme les alcools et les éthers d'alcool et de phénol en éthers iodhydrique sous l'action de l'acide iodhydrique concentré ; par exemple :



puis :



L'acide iodhydrique saponifie les éthers oxydes méthyliques en donnant de l'iodure de méthyle qui bout à 44° ; on distille avec un réfrigérant à reflux qui laisse passer l'iodure de méthyle et retient l'acide iodhydrique. L'iodure est reçu dans une solution de nitrate d'argent, après avoir été débarrassé de l'acide iodhydrique et de l'iode entraînés.

Appareillage. — On dispose la substance et l'acide iodhydrique ($d = 1,70$; pt. éb = 120°) dans un ballon muni d'une tubulure latérale permettant de faire passer un courant de gaz carbonique, et d'un réfrigérant à reflux dans lequel on fait circuler de l'eau à 40° environ, ce qui permet à l'iodure de passer et condense l'acide iodhydrique ; comme il passe de petites quantités d'acide et d'iode, on fait barboter les gaz dans un tube de GEISSLER contenant du phosphore rouge et de l'eau à 60° pour éviter la condensation de l'iodure de méthyle. L'eau du tube à boules condense les petites quantités d'acide iodhydrique et le phosphore arrête l'iode. De là l'iodure se rend dans une solution de nitrate d'argent alcoolique ; on dispose en queue un flacon témoin contenant du nitrate d'argent.

Mode opératoire. — Un courant de gaz carbonique purgé l'appareil, puis on met dans le ballon 0 g.,30 de substance dissoute dans un peu d'acide acétique et 10 cm³ d'acide iodhydrique ($d = 1,70$), on porte à ébullition pendant une heure. La réaction est terminée quand le liquide surnageant le précipité d'iodure d'argent est limpide et non opalescent, à ce moment le nitrate d'argent ne doit plus donner de précipités. Le précipité recueilli est une combinaison de iodure et de nitrate d'argent, on le traite par l'eau, on évapore pour chasser l'alcool, solubiliser le nitrate et séparer l'iodure d'argent ; on recueille ce dernier sur filtre, on pèse.

Résultats du dosage. — 1° Connaissant les quantités d'éther iodhydrique de la pyrocatéchine (isolée préalablement par distillation sous forme d'éther monométhylé) ; connaissant les quantités d'éther iodhydrique totales et d'éther iodhydrique de la phloroglucine, on constate que pour 1 molécule de produit cristallisé naturel déshydraté ($C_{15}H_{14}O_6$) = 290, on a une molécule de pyrocatéchine ($C_6H_6O_2$) = 122, une molécule de phloroglucine ($C_6H_6O_3$) = 138 et un indosé de 10 p. 100.

2° De plus ce dosage a été effectué par la méthode au tribromophénol ; les mêmes résultats ont été trouvés.

Technique. — Traiter le phénol par le brome en excès, le tribromophénol 1, 2, 4, 6, est obtenu. Si on mesure la quantité de brome qui n'a pas agi, on a par différence le brome combiné. On produit le brome nécessaire par une solution de bromure et de bromate de potassium en présence d'acide sulfurique. On dose le brome résiduel par l'iode. (Ce n'est pas le tribromophénol qu'on extrait finalement mais le corps résultant de sa transformation par les alcalis en présence d'iode : c'est la tétra-iododiphénylènequinone) ; le dosage doit être fait sur la pyrocatéchine séparée par distillation à l'état de gaiacol, et sur la totalité des phénols.

Formule centésimale du produit naturel cristallisé (1).

L'analyse élémentaire est faite par les méthodes classiques de combustion.

Résultats :

1 ^{er} dosage. — Poids de substance.....	3 g.,350	
Carbone.....	62 g.,30	p. 100
Hydrogène.....	5 g.,09	p. 100

Eau perdue par les cristaux à 100° sous pression réduite : 19,4 p. 100.

2 ^e dosage. — Poids de substance.....	3 g.	
Carbone.....	61 g.,52	p. 100
Hydrogène.....	5 g.,199	p. 100

Eau perdue par les cristaux à 100° sous pression réduite : 19 p. 100.

3 ^e dosage. — Poids de substance.....	4 g.,36	
C = 62,31 p. 100.	CO ₂ =	9 g.,98
H = 5,09 p. 100.	H ₂ O =	1 g.,09

Formule moléculaire ; C₄₅H₄₄O₆, 4 H₂O

PRÉPARATION DES ÉTHERS.

La fusion alcaline ayant montré la présence de deux noyaux phénoliques, le nombre et la place des groupements (OH) dans le noyau du produit ont été recherchés par la préparation de leurs éthers.

MÉTHYLATION DU PRODUIT ISOLÉ.

On dissout 4 grammes de produit catéchique chimiquement pur (2) anhydre et sec dans 25 centimètres cu-

(1) Le poids moléculaire des catéchines en C₁₅H₁₄O₆ a été mesuré par FREUDENBERG, CÖSE et BRAUM par plusieurs méthodes physiques ; toutes ces méthodes donnent une grandeur moléculaire égale à C₁₅H₁₄O₆ = 290. Les chiffres trouvés par nous (par cryoscopie) sont de ce même ordre de grandeur.

(2) L'examen au microscope des préparations cristallisées montre qu'elles sont composées de petits cristaux en aiguilles, libres ou groupés, dextrogyres en solution dans l'eau acétonée et fondant à 170° ; dans certaines préparations cristallisées se trouvent également de rares petits cristaux prismatiques. Ces cristaux ont été séparés par la technique suivante : FREUDENBERG a montré que ces cristaux de catéchine dextrogyre, cristallisés en aiguilles, sont

bes d'alcool à 90°, on y ajoute 10 cm³ de diméthyl sulfate et on chauffe pendant 3 minutes avec 2 cm³ de solution alcoolique de potasse à 50 p. 100 (1).

Théoriquement le produit obtenu est le dérivé méthylé au maximum ; l'analyse élémentaire cadre avec la formule $C_{15}H_{14}O_6 \cdot 4H_2O = 390$; il contient cinq groupes CH^3 , son point de fusion est 92°. La rotation spécifique est de + 8° (dans l'eau acétonée), à 15 degrés centigrades.

Le dérivé pentaméthylé est mélangé avec le dérivé tétraméthylé, pratiquement il faut les isoler, le rendement en dérivé pentaméthylé étant faible. Pour cela d'abord on méthyle avec un excès de sulfate de méthyle ; par addition d'eau au liquide réactionnel alcoolique, on obtient un mélange cristallin, d'éther tétraméthylique et d'éther pentaméthylique (2).

Le produit desséché est épuisé plusieurs fois à la température ordinaire avec du tétrachlorure de carbone qui laisse insoluble l'éther tétraméthylique. Ce résidu est alors à nouveau méthylé et ainsi de suite jusqu'à ce que tout soit soluble dans le tétrachlorure de carbone froid.

On fait plusieurs cristallisations dans l'alcool éthylique et dans l'alcool amylique ; le produit pentaméthylé cristallise le mieux dans l'alcool méthylique et fond à 92°-93°.

moins solubles que les cristaux prismatiques. De plus, les dérivés méthylés des cristaux en aiguilles sont beaucoup moins solubles que les dérivés méthylés des cristaux prismatiques qui restent dans les eaux-mères. La préparation de la catéchine droite a donc toujours été réalisée avec une cristallisation fractionnée dans les solvants déjà indiqués et les eaux-mères ont été étudiées selon la technique indiquée plus loin.

De plus, pour obtenir un bon rendement de produits catéchiques cristallisés dextrogyres, il faut opérer sur des latex liquides ou desséchés ayant été traités au moment de leur récolte par l'alcool bouillant, sinon la catéchine se racémise, son racémate se dédouble, puis les variétés stéréoisomères appelées épicatechines apparaissent.

Cette remarque a été mise en relief par les travaux de PURMANN, pour les cachous et les kinos, et de BIGGS pour le cacao.

Il faut en tenir compte pour la recherche de la catéchine dans le Guarana et la Kola.

(1) KARL FREUDENBERG. — *Ber.* Cf. Bibliographie.

(2) TOCHTERMAN. — *Ber.*, 55, 1922.

Le dérivé le plus méthylé est le plus soluble des divers éthers méthyliques dans les solvants organiques.

ETUDE DE LA RÉDUCTION.

Dans le but d'étudier le noyau du produit isolé et en particulier la nature de l'atome d'oxygène non inclus dans un OH étherifiable, l'éther pentaméthylrique a été réduit. Cette réduction a été réalisée par l'hydrogène humide en présence de noir de platine, ou mieux, avec un bon rendement, par le sodium alcoolique : une partie d'éther pentaméthylrique et huit parties de sodium ont été lentement diluées au bain-marie par cent-vingt fois leur volume d'alcool absolu (1).

On obtient de fines aiguilles transparentes ; elles fondent à 87° ; elles sont solubles dans le benzène et le sulfure de carbone. L'analyse centésimale a donné les chiffres suivants :

$$0 \text{ g.,41 de substance donnent } \left\{ \begin{array}{l} \text{CO}_2 = 0,285 \quad \text{C} = 62,39 \\ \text{H}_2\text{O} = 0,076 \quad \text{H} = 6,85 \end{array} \right.$$

Cette composition cadre avec la formule : $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_5$ = 346 ; Calculé C = 62,4, H = 6,813, c'est l'éther pentaméthylé et réduit de catéchine.

Recherche des groupes méthyles.

290 g. de substance donnent 5 groupements méthylés, dosés par la méthode à l'iodoforme.

Dosage des groupes phénoliques.

Les groupes phénoliques et les éthers de phénol ont été dosés par la méthode de ZEISEL (2). Connaissant le poids d'une molécule de substance, il en résulte qu'une molécule de pyrocatéchine et une molécule de phloroglucine existent dans 1 molécule de substance.

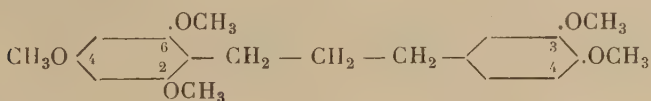
(1) FREUDENBERG. — *Ber.*, 55, 1922 ; 56, 1923.

(2) Méthode exposée précédemment p. 40.

Comparaison cristallographique entre l'éther pentaméthylé et réduit de la catéchine isolée et le pentaméthoxydiphénylpropane synthétique.

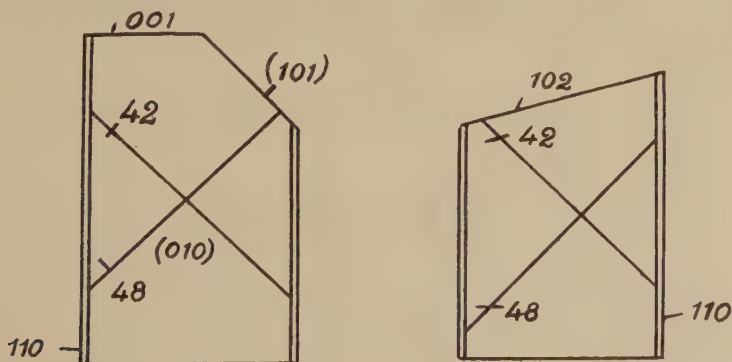
Les essais physiques et chimiques du dérivé pentaméthylé réduit, montrent que ce corps est identique au pentaméthoxydiphénylpropane ; de plus, les formes cris-

Tableau représentant les caractères du produit naturel pentaméthylé réduit et du produit synthétique 2-4-6,3'-4' pentaméthyl α - γ diphénylpropane.



Chiffre moyen	Mesures de			
	Préparation synthétique dans		Préparation naturelle dans	
	l'alcool	la ligroïne	l'alcool	la ligroïne
(110) : (010)	52°50'	52°10' - 53°20'	52°05' - 53°23'	
(001) : (001)	86° 3'	85°58'	86°4'	86°
(001) : (101)	47°31'	—	47°31'	47°-48°
(001) : (102)	60°41'	60°-61°	60°-61°	60°-61°

Les chiffres en caractères gras indiquent les mesures avec Goniomètre.
Les autres chiffres indiquent les mesures avec microscope (1).



(1) Dans ses recherches sur les catéchines de Catéchu, de Gambir, etc., FREUDENBERG a mesuré dans la plupart des cas les angles des cristaux obtenus par réduction de la catéchine étudiée (pentaméthylée) et du pentaméthyl-diphényl-propane synthétique. Les chiffres obtenus avec le dérivé pentaméthylé réduit de ces deux catéchines et du produit synthétique sont identiques aux chiffres ci-dessus.

tallines des deux substances pentaméthylées (naturelle et synthétique) ont été étudiées et comparées. Les deux substances destinées aux mesures ont été cristallisées dans l'alcool et l'acide formique ; dans ces solvants il se produit une zone prismatique fissurée.

Dans l'alcool méthylique, les cristaux sont réguliers, leur longueur est de 1 cm. environ et leur épaisseur, 1/2 millimètre environ (1).

EXTRACTION DES CORPS CONTENUS DANS LES EAUX-MÈRES DE CRISTALLISATION (2).

L'extraction des cristaux en aiguilles a été poussée le plus loin possible en refroidissant énergiquement les milieux de cristallisation. Ces milieux ont alors été soumis à l'évaporation sous pression réduite : des cristaux prismatiques se sont formés alors en nombre de plus en plus grand ; ces cristaux ont été redissous et cristallisés plusieurs fois, puis leur éther tétraméthylique a été préparé. Les cristaux de cet éther ont été soumis à plusieurs cristallisations, puis ils ont été hydrolysés et une cristallisation de cristaux prismatiques purs a été obtenue. Enfin ils ont été soumis à plusieurs cristallisations dans l'acétone.

Soumis aux mêmes techniques analytiques que le produit phénolique cristallisé en aiguilles, ils ont donné les résultats suivants :

(1) En plus des caractères analytiques qui ont été décrits, la catéchine isolée se combine avec la gélatine, elle donne des précipités avec la solution de peptone, les solutions de sérum-albumine et les solutions d'insuline. Aucune combinaison n'a pu être obtenue avec la fibrine (Globuline). La catéchine droite mono-acétylée présente également les mêmes combinaisons.

(2) Les cristaux en forme de prismes épais, plus solubles que les cristaux en aiguilles fines, se concentrent peu à peu dans les eaux-mères d'où on a extrait les cristaux aiguillés. En plus de leur caractère cristallographique, ces éléments nouveaux montrent également leur présence par leur pouvoir fortement lévogyre, aussi bien en solution hydro-acétonique qu'en solution hydro-alcoolique.

Le point de fusion du produit sec est de 237°.

Le pouvoir rotatoire spécifique est de — 60° (solution alcoolique et acétonée à 4 p. 100, à la température de 15° cg.).

Réduit il donne le noyau de l' α - γ -diphénylpropane.

Sa molécule contient une molécule de pyrocatéchine et une molécule de phloroglucine.

Chaque molécule contient 5 groupes (OH) étherifiables.

PRÉPARATION D'UN SEL OXONIUM A PARTIR DU COMPOSÉ CATÉCHIQUE DEXTROGYRE.

1° Si on ajoute à 10 cm³ d'une solution acétonique au 10° du composé catéchique cristallisé en aiguilles, 1 cm. d'acide chlorhydrique concentré, il se produit une coloration rouge vif. Par évaporation en milieu déshydratant, on obtient de fines aiguilles rouges fondant à 127°, s'hydratant à l'air et devenant déliquescentes ; l'analyse élémentaire y a montré l'existence d'une molécule de chlore pour 1 molécule de produit.

2° En ajoutant à une solution acétoalcoolique du composé catéchique dextrogyre cristallisé (solution à 10 p. 100), une solution d'acide chloroplatinique, on obtient un composé cristallisé rouge.

3° Dans les mêmes conditions l'acide oxalique donne un composé cristallisé rouge.

4° L'acide picrique donne un composé cristallisé rouge.

5° Enfin il est possible d'obtenir un composé organo-magnésien selon la technique de GRIGNARD (1).

(1) FRIEDEL. — Préparation des sels oxonium. Cf. Bibliographie.
FOSSE. — Cf. Bibliographie.

SACKUR (O.). — Propriétés basiques de l'oxygène tétravalent.
Ber., 1902, 35, 1242.

BODROUX. — Réactions des oxydes phénoliques sur le magnésium. *C. R.*, 1903, 136, 158-377-61 ; *Bull. Soc. Chim.*, 1904, p. 33.

DIONNEAU. — *C. R.*, 1906, 142, 91 ; 1907, 145, 127.

GRIGNARD. — Oxygène basique ; Déplacement d'un oxygène basique. *C. R.*, 1903, 136, 1260.

Formule de constitution.

Après les combustions dont les résultats ont donnés :

1 ^{er} dosage. — Poids de substance.....	3 g.,350
Carbone.....	62 g.,30 p. 100
Hydrogène.....	5 g.,09 p. 100
2 ^e dosage. — Poids de substance.....	3 g.
Carbone.....	61 g.,52 p. 100
Hydrogène.....	5 g.,199 p. 100
3 ^e dosage. — Poids de substance.....	4 g.,36
Carbone.....	62 g.,31 p. 100
Hydrogène.....	5 g.,09 p. 100

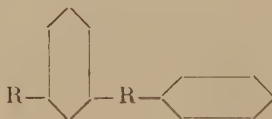
$$\text{CO}_2 = 9 \text{ g.,38}$$

$$\text{H}_2\text{O} = 1 \text{ g.,99}$$

la formule moléculaire correspond à : $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$.

L'eau perdue par les cristaux à 100° sous pression réduite est de 19 p. 100.

D'autre part un éther pentaméthylé a pu être préparé. La formule moléculaire ci-dessus contient donc 5 OH étherifiables. La fusion alcaline donne un noyau diphénolique en 1.2, (la pyrocatéchine) et un triphénol en 1.3.5 (la phloroglucine), ce qui amène à penser que le corps analysé contient le groupe diphenyl portant une ou plusieurs chaînes latérales R pour le reste des carbones.



(1) Page 73.

GUYOT et CATEL. — *Bull. Soc. Chim.*, 1906, p. 1126.

HAMONET. — *C. R.*, 1904, 138, 975 ; 139, 59.

TISCHELINZEFF. — *Ber.*, 1905, 38, 3664 ; 1906, 39, 773 ; *Journ. Soc. Phys. et Chim. R.*, 39, 975.

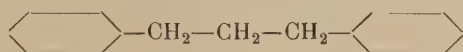
WATSON et SEN. — Quercétine et Magnésiens. *Ch. Soc.*, 1914, 105, 389.

ULLMANN et ENGL. — Xanthone et Magnésien. *Ber.*, 1904, 37, 2367.

COMBERG et BRITTON. — Méthoxyxanthonés et Magnésiens. *Ann. Ch. Soc.*, 1912, p. 1529.

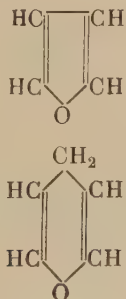
COMBERG et BRITTON. — Thioxanthone et Magnésien. *Ann. Ch. Soc.*, 1921, 43, 1945.

De plus la réduction de l'éther pentaméthylé du produit donne un dérivé ayant le noyau du diphényl-propane, contenant les 15 atomes de carbone ; il doit donc être possible de caractériser la chaîne intermédiaire entre les deux noyaux phénoliques.



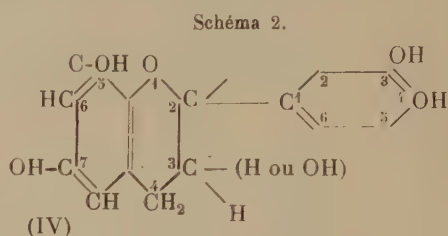
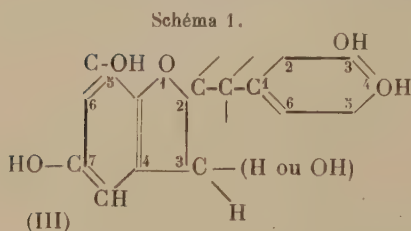
Les essais réalisés montrent que le corps analysé contient un oxygène non étherifiable, capable de doubler sa valence, cet atome d'oxygène a les propriétés d'un oxygène basique sur une chaîne hexagonale ou pentagonale ; les réactions de GRIGNARD faites sur un tel corps sont réalisées sur l'oxygène basique, et non sur un CO cétonique.

Or, les chaînes du type pentagonal sont des furfuranes, les chaînes hexagonales sont des pyranes :

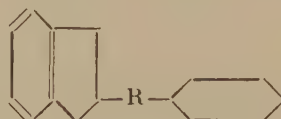


Le produit étudié pouvait à priori appartenir à l'un ou l'autre de ces types et c'est à cette alternative qu'amènent l'analyse et l'étude de structure de ces produits colorés (cachou, kola, cacao, gambir, guarana, paulinia) et toutes les séries des substances végétales colorées étudiées par FREUDENBERG et ses collaborateurs, la Quercétine (du Quercitrin), la Galangine (du *Galanga*), la morine (du *Morus tinctoria*), la Fisetine (du *Rhus cotinus*). La structure des composés ayant un O basi-

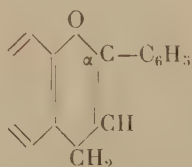
que, 5 (OH), 15 C, 1 diphénol en 1.2, et 1 triphénol en 1.3.5. pouvait donc être schématiquement :



Or, 1° la chaîne latérale R n'a pu être mise en évidence.



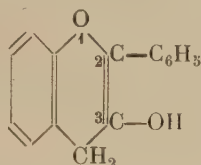
2° La réduction de la Quercétine (pentaoxyflavone en C_{15} , ayant le schéma 2 avec un groupe CO en position 4) donne de la catéchine en $C_{15}H_{14}O_6$. La réduction de la cyanidine qui a le schéma 1 ne donne pas de la catéchine en $C_{15}H_{14}O_6$. Il a été possible de faire la synthèse totale de la Quercétine (tétraoxyflavanol) à partir de l' α -phénylchromane ; et ensuite, soit à partir de l' α -phénylchromane soit à partir de la quercétine, il a été



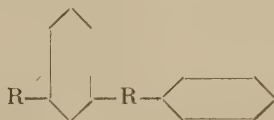
possible de faire la synthèse complète de la catéchine du cachou et du gambir, de la kola, du guarana et des diverses substances colorées de ce type, et le produit synthétique obtenu a les mêmes propriétés chimiques physiques, cristallographiques que les produits naturels et les mêmes produits de décomposition à l'air libre.

3° Les travaux de FREUDENBERG et de PERKIN ont montré que les composés oxyflavaniques dont la formule moléculaire correspond à $C_{15}H_{14}O_6$, ont pour poids moléculaire à l'état sec 290.

De ces composés naturels en C_{15} , ayant un oxygène capable de doubler sa valence, 5 (OH), et donnant par réduction le noyau du diphenyl-propane, FREUDENBERG a isolé 6 composés cristallisés, à savoir : 4 formes actives (inverses optiques deux à deux), et deux racémiques dédoublables. Ce fait apporte un nouvel argument à la structure d'un dérivé de l' α -phényl-oxy-3-chromane.



Une formule telle que :



comme le proposait KOSTANECKI, qui pensait que ces corps (ou tout au moins le colorant du Gambir sec), avaient le noyau de l'éthyl-diphényl-méthane, est impossible pour les raisons chimiques exposées et pour les raisons de diastéréoisomérie.

Enfin les pentaoxyflavanes à 6 atomes d'oxygène par molécule, (avec un diphenol en 1.2., et un triphenol en 3. 5. 7.) auront un OH en position 3 pour les raisons analytiques exposées, et pour les raisons de synthèse, puisque la synthèse peut en être faite avec l' α -phényl-3-oxychromane.

De plus il est possible de préparer un dérivé tétraméthylé puis un dérivé tétraméthyl-monochloré sur le OH situé en position 3.

4° Enfin le dérivé tétraméthyl-monochloré sera réduit et donnera un tétraoxyméthyldiphénylpropane dont les constantes sont connues.

Pour préparer le dérivé monochloré de la tétraméthyl-catéchine, on peut opérer de la façon suivante :

On mélange à froid 50 g. de Pentachlorure de phosphore avec 30 g. de méthyl-catéchine dans un ballon de 500 cm³. On ferme par un bouchon de liège traversé par un tube de 1 mètre de long environ dont l'extrémité supérieure est engagée sous la hotte, puis on agite. Au bout d'une demi-heure il y a liquéfaction partielle et on termine la réaction en chauffant légèrement au bain-marie. Quand l'acide chlorhydrique a cessé de se dégager on laisse refroidir. On décante et on distille la liqueur claire dans le vide. L'oxychlorure de phosphore passe d'abord sous 15 mm. vers 60°. On laisse à l'air sous une hotte. Peu à peu apparaît par évaporation et assèchement une poudre cristalline blanchâtre.

Essais du produit. — Point de fusion : 130°, 135°, 136°.

Caractérisation du chlore. — Il est facile à réaliser par ébullition avec une solution de soude et précipitation du chlore à l'état de chlorures insolubles.

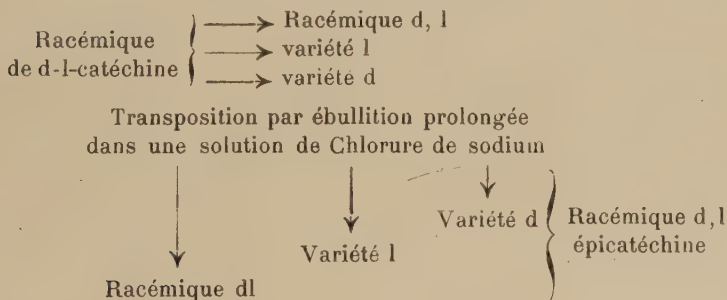
Pour plus de précision nous citerons quelques extraits des techniques de FREUDENBERG. Celui-ci a démontré chez les pentaoxyflavanols l'existence de 2 carbones asymétriques et de 2 groupes de composés isomères de position ; il a appelé le 1^{er} groupe « catéchine », le 2^e « épocatéchine » en se basant sur la nomenclature des glucides où « l'épimérie produite par la transposition des 2 carbones asymétriques équivaut à une stéréoisomérisation lorsqu'on a affaire à des combinaisons renfermant au moins 2 carbones asymétriques ». Il a réalisé l'expérience suivante :

« Quand la molécule renferme 2 atomes de carbone asymétrique il doit se produire au cours de la transposition, tant que la racémisation n'est pas complète, à côté de la substance initiale et de son racémate, deux autres formes : un nouveau racémate et sa composante

active. Il semblait impossible de séparer un tel mélange de quatre catéchines. Pour cette raison, on a effectué la transposition sur la forme racémique correspondant à la d-catéchine, ou à la d-l-catéchine que l'on a pu obtenir par le mélange des catéchines à partir de l'Uncaria Gambir et de l'Acacia-Catéchu. Il est évident que ce racémate ne peut donner qu'une *seule* forme nouvelle qui est bien entendu une forme racémique.

L'expérience avait réussi. Toutefois, étant donné la grande sensibilité de la catéchine, la plus grande partie en fut perdue par la résinification, car il fallait bouillir pendant plusieurs heures dans une solution de chlorure de sodium ; le reste est constitué par le mélange des deux catéchines inactives que l'on a pu séparer. Nous désignons la nouvelle catéchine sous le nom de d, l-épicatéchine ».

Schéma de la Transposition.



Voici un exemple des techniques de FREUDENBERG (1) : pour l'étude de la réduction des catéchines :

«.....Préparation de la 2, 4, 6-triméthoxyphényl-3'4'-diméthoxystyrylcétone...

Les indications de TUTIN et de CATON peuvent être simplifiées et améliorées de la façon suivante quand au rendement :

(1) FREUDENBERG (K.). — *Berichte*, 1920, 53, 1416 ; 1921, 54, 1211 ; 1922, 55, 2813-1734 ; *Lieb. Ann.*, 1922, 429, 284.

Une solution de 5 g. d'aldéhyde véricatrique et de 5 g.³ d'éther phloracéto-phénotriméthylrique dans 50 cm³ d'alcool est additionnée, à la température modérée, de 2 cm³,5 de lessive de soude N/10. et conservée pendant 24 heures à la température de 40°. Les cristaux abondants jaune soufre se multiplient dans le mélange réfrigérant ; ils sont d'abord lavés dans un mélange d'alcool et d'eau (2 à 3 volumes) puis à l'eau seule. On obtient encore une faible fraction quand les liqueurs alcalines sont additionnées de beaucoup d'eau. L'émulsion laiteuse se dépose en quelques jours sous forme de cristaux qui sont recristallisés dans très peu d'alcool et que l'on ajoute à la fraction principale ; le rendement est de 9 g. La solution dans l'acide chlorhydrique concentré est violet-noir.

Préparation du 2, 4, 6, 3', 4'-pentaméthoxy- α , γ -diphénylpropane.

L'hydrogénation avec le noir de platine devait conduire de la cétone non saturée à la cétone saturée. On pouvait s'y attendre d'après de nombreux exemples que BARGELLINI avait donnés après hydrogénation de ces cétones. Dans le cas dont nous parlons, la réaction va plus loin. Cependant BARGELLINI n'opérait pas sur des dérivés de phloroglucine et utilisait comme dissolvant soit l'alcool, soit l'éther, tandis que je m'étais servi pour l'hydrogénation de l'acide acétique cristallisé, car la cétone de TUTIN est difficilement soluble dans l'alcool. J'ignore si c'est la phloroglucine ou le dissolvant qui influe sur la réaction ; pendant que l'hydrogénation de BARGELLINI reste au repos après l'absorption de 2 atomes d'H, dans mon expérience ce sont 6 atomes qui ont été absorbés très vite ; pendant ce temps le carbonyle de l'O est réduit et éliminé on met en réaction : 3 g. de cétone (dissous dans 15 cm³ d'HCl, avec 1,5 de platine) et 590 cm³ d'H humide (762 mm., 18°). La solution devient incolore et après addition d'eau, donne une cristallisation quantitative de pentaméthoxy-diphénylpropane. Le produit brut a été recristallisé d'abord avec de la ligroïne, avec du charbon animal et de la fibrine, puis de l'alcool. Il se sépare en rectangles brillants, incolores, très fins, en forme d'aiguilles, fondant à 87°-88°. Les cristaux se dissolvent facilement dans

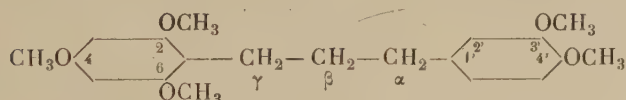
le benzol froid ; le sulfure de C, le tétrachlorure de carbone, l'éthylène dichloré, l'éther acétique et le tétrahydronaphtalène ; ils se dissolvent difficilement dans la ligroïne froide, l'éther, l'alcool éthylique, méthylique, propylique et amylique.

0,1241 de substance : 0,3160 de CO₂, 0,0845 d'H₂O

C₂₀H₂₆O₅ (346,31). Calculé C 69,33, H 7,57

Trouvé C 69,47, H 7,62

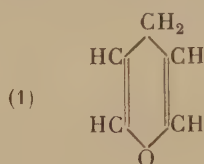
Pour obtenir des préparations comparatives, on s'est servi d'éther tétraméthylique de catéchine provenant de la catéchine de gambir. Cette combinaison a été réduite et méthylée selon les indications de KOSTANECKI et LAMPE. Le produit de la réaction a été recristallisé exactement comme le produit synthétique et il fond à quelques degrés plus haut que ces deux auteurs ont indiqué, soit à 87°-88°, donc exactement comme la préparation synthétique (échantillon de mélange). Aucune différence n'a pu être décelée dans la solubilité et la forme cristalline. Un petit échantillon des préparations obtenues à partir de la catéchine a été distillé dans le vide d'une pompe de Volmer atteignant 350°. Les premières et les dernières gouttes du distillat, recristallisées dans l'alcool, avaient un point de fusion inchangé ».



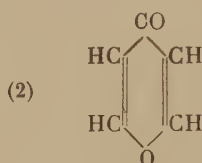
NOMENCLATURE.

Au point de vue de la nomenclature, les produits étudiés sont appelés sous le nom général de « catéchines oxyflavoniques », ou encore « flavonones » ou simplement « flavones » ; il serait préférable d'utiliser la nomenclature exacte, de même les termes « flavines » ou flaves sont impropres car ce sont des dérivés de l'alloxane.

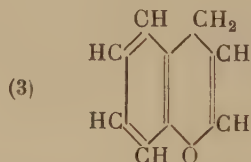
En effet le γ -pyrane a pour formule : (1)



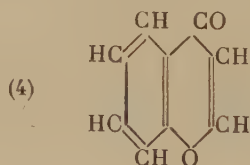
la γ -pyrone a pour formule : (2)



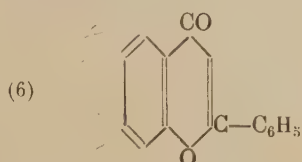
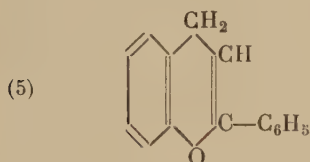
la γ -pyrane combinée avec un noyau benzénique donne une benzo- γ -pyrane ou chromane : (3)



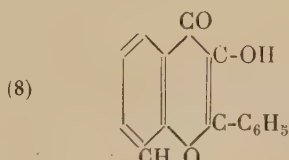
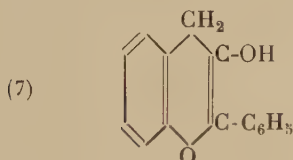
la γ -pyrone combinée avec un noyau benzénique donne une benzo- γ -pyrone ou chromone (4)



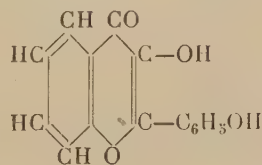
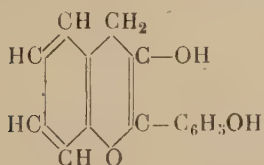
La chromane donne la phénylchromane ou flavane (5) et la chromone donne la phénylchromone ou flavone (6).



Si on introduit un OH phénolique dans le noyau de la phénylchromane on a une phénylhydroxychromane ou hydroxyflavane (7) et si on introduit un OH phénolique dans le noyau de la phénylchromone, ou flavone, on a une phénylhydroxychromone ou hydroxyflavone (8).



Si on introduit un ou plusieurs OH phénoliques dans le noyau phényl de la phényloxychromane ou oxyflavane, on a un oxyflavanol, et si on l'introduit dans le noyau phényl de l'oxyflavone, on a un oxyflavonol.



Le corps isolé par nous représentant par molécule, 6 oxygène dont 5 dans les groupes OH étherifiables, la fusion alcaline donnant une molécule de phlorogluciné et une molécule de pyrocatechine, un oxygène capable de

doubler sa valence, 15 atomes de carbone, on pourra l'appeler (1) :

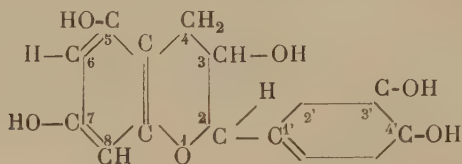
Dioxyphényl-trioxydihydrochromane.

et même nous pouvons préciser :

3, 4 dioxyphényl-3, 5, 7 hydroxydihydrochromane.

On peut l'appeler encore :

3, 5, 7, 3', 4' pentahydroxydihydroflavane ; 3', 4' indiquant la place des 2 OH phénoliques (pyrocatéchine) dans la chaîne phényl-latérale.



Cependant l'OH phénolique placé en 3 est bien à sa place pour les raisons données en pareil cas par ceux qui ont étudiés les pentaoxyflavanols avant nous (PERKIN et FREUDENBERG) et spécialement par le fait que les recherches de ce travail ont montré l'existence dans le milieu étudié de 2 variétés isomériques, l'une droite de pouvoir rotatoire multivalent, l'autre gauche de pouvoir rotatoire univalent appartenant à un autre groupe d'isomères optiques et se rapprochant des constantes optiques données par PERKIN et FREUDENBERG pour des penta-oxyflavanols en $C_{15}H_{14}O_6$, par le fait de la réalisation d'un dérivé tétraméthylé monochloré du corps dextrogyre isolé, ce dérivé monochloré réduit ayant donné du tétraméthoxydiphénylpropane dont les constantes sont connues, par le fait de la réalisation par réduction du

(1) Les travaux allemands sur les flavanes, considérant surtout la fonction des groupes OH, ces OH sont désignés généralement par le terme oxy précédé du chiffre de la place qu'ils occupent, par exemple 3,5, 7, 3', 4' penta-oxy-flavane. Nous pensons sur la suggestion de M. le Professeur M. JAVILLIER qu'il est possible de donner à ces corps une nomenclature plus précise, par exemple le même corps sera mieux désigné par : 3, 5, 7, 3', 4' tétra-hydroxy-dihydroflavanol 3.

produit catéchique d'un composé de propriétés identiques à celles de l' α - γ -diphénylpropane, enfin par ses constantes physiques qui se rapprochent de très près de celles de plusieurs pentaoxyflavanols en $C_{15}H_{14}O_6$ isolées par FREUDENBERG et PERKIN.

Enfin quelle que soit la façon dont se fait la migration dans le noyau de la phénylchromane selon les schémas de PERKIN, la formule avec un OH en 3 est la seule possible (1).

Les deux substances isolées à l'état cristallisé sont des pentaoxydihydroflavanols ; des recherches récentes donnent à penser que ce sont de telles substances qui « s'auto-oxydent » (2) pour donner un corps (pyrone ou flavonol) capable d'oxyder à son tour, dans un milieu vivant. Si l'oxydation continue, le composé « flavonique » prend une teinte de plus en plus foncée, et de clair ou de jaune clair devient jaune foncé ou rouge puis brun (oxyflavanol, oxyflavane, flavane) : il n'y a plus échange d'oxygène, le milieu n'est plus vivant.

CONCLUSION SUR L'ÉTUDE DE LA STRUCTURE CHIMIQUE DES PRODUITS PHÉNOLIQUES ISOLÉS.

L'un cristallise sous forme de fines aiguilles et fond à l'état sec à 170° , il a un pouvoir rotatoire dextrogyre variable suivant les dissolvants. Chaque molécule du produit ($C_{15}H_{14}O_6$) = 290 cristallise avec 4 molécules d'eau ($C_{15}H_{14}O_6 \cdot 4 H_2O$) = 362, la fusion alcaline permet d'en extraire une molécule de pyrocatéchine et une molécule de phloroglucine. Cette molécule réduite produit une molécule de α - γ -diphénylpropane ; elle contient

(1) FREUDENBERG écrit : « qu'on admette pour les flavanols en C_{15} la stéréoisomérisie seule ou combinée au déplacement dans le noyau selon les schémas de PERKIN, les seules formules à admettre sont les formules III et IV et après expérimentation on conclut à la formule IV seule possible ». Cf. p. 76, schéma 2.

(2) SZENT-GYÖRGYI. — L'oxydation biologique. *Soc. Chim. Biol.*, 1938, n° 7, 20, 846.

un oxygène basique. Les recherches analytiques permettent de caractériser 5 groupes (OH). Il donne un dérivé pentaméthylé fondant à 92°. Son pouvoir rotatoire spécifique en solution acétonée à 9 p. 100 est de + 16°90, à 15° centigrades.

Ces caractères sont ceux d'un corps polyphénolique du groupe des catéchines (hydro-oxyflavanol).

L'autre corps phénolique cristallise en prismes et n'a pu être isolé qu'en très petites quantités ; il est plus soluble dans les divers solvants que le produit cristallisant en aiguilles. Il a sur la lumière polarisée un pouvoir lévogyre aussi accentué en solution alcoolique qu'en solution acétonique. Son point de fusion à l'état sec est de 237°. Ses caractères analytiques sont les mêmes que ceux du produit cristallisé en aiguilles.

Ce produit se présente donc comme un polyphénol du groupe des Catéchines, variété optique du produit précédent. En comparant ses constantes à celles des corps catéchiques isolés par FREUDENBERG, BÖHME, COSE, PURRMANN, il est possible de constater qu'elles l'apparentent au groupe des Epicatéchines.

Propriétés physiques et chimiques des corps préparés.

	Cathéchine Variété droite	Epicatéchine Variété gauche
Formes cristallines.....	Aiguilles fines	Prismes épais
Eau de cristallisation....	4 H ₂ O se dessèche à l'air et jaunit à l'étuve à 90°	4 H ₂ O se dessèche à l'air et jaunit à l'étuve à 90°
Point de fusion	(bien sec) 170°	(Bien sec) 237°
α^D déviation polarimé- trique sol. dans alcool.	+ 1°	— 60° en solution à 7 p. 100
α^D deviation polarimé- trique, tube de 10 cm ³ .	+ 16°90 sol. à 9 p. 100 dans eau acétonée	— 60° sol. à 4 p. 100 dans eau acétonée
Tétraméthylcatéchine ...	point de fusion 140°	
Dérivé tétraméthylmono- chloré	point de fusion 135°	
Pentaméthylcatéchine...	point de fusion 92°	
Réduction	α - γ diphenylpropane	α - γ diphenylpropane
Nombre de groupes éthé- rifiables	5 groupes (OH)	5 groupes (OH)
Composition centésimale.	C ₁₅ H ₄₄ O ₆ = 290	C ₁₅ H ₄₄ O ₆ = 290
Fusion alcaline.....	pyrocatéchine et phloroglucine	pyrocatéchine et phloroglucine
Désignation.....	pentahydroxydihydro- flavane	pentahydroxydihydro- flavane
Action sur MnO ₄ K et bleu de méthylène.....	décoloration	décoloration
Action sur gélatine	préc. flocc. (sol. diluée)	
Action sur la sérum albu- mine	préc. flocc. (sol. conc.)	
Action sur les toxalbu- mines (diphthérique et tétanique.).....	préc. flocc. (sol. diluée)	
Action sur insuline.....	précipité floconneux	

Ferments du Latex.

Recherches et caractérisations.

Au moment de l'incision du tronc de l'arbre de Croton Gossypifolius, incision faite pour recueillir le latex, on voit apparaître celui-ci qui prend une teinte rouge sang, cette teinte restera sensiblement égale pendant 5 à 6 mois, puis deviendra moins vive, puis brune, enfin le latex laisse déposer un sédiment brun ; cette modification se fait plus vite si le liquide est exposé à l'air et au soleil.

Cette observation a conduit à rechercher si le latex contient des ferments d'oxydation, d'hydratation et de dédoublement, agissant en plus ou à côté des réactions chimiques d'oxydation du noyau oxyflavonique particulièrement actif et fragile.

On sait en effet depuis les travaux de M. Em. BOURQUELOT et G. BERTRAND (1) l'importance biochimique des chromogènes et des diastases sur ces chromogènes.

I° RECHERCHES SUR LES OXYDASES ET LES PEROXY-DIASTASES (2).

a) Réaction avec la teinture de gaïac.

Si on dispose sur une lamelle une goutte de latex frais et qu'on y laisse tomber une goutte de teinture de gaïac fraîche, il ne se produit pas de coloration bleue (même en présence de sel de manganèse) (2).

(1) Em. BOURQUELOT. — Les ferments. Cf. Bibliographie.

Em. BOURQUELOT et G. BERTRAND. — Sur la coloration des tissus et du suc de certains champignons au contact de l'air. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1896, (6), 3, 177.

G. BERTRAND. — La coloration du jus de betterave et les ferments solubles oxydants. *Bul. As. Chim.*, 1896, 14. — Sur les relations du chromogène surrénale avec la tyrosine. *C. R. Ac. Sc.*, 1904, 138, 649. — Recherches sur la mélanogénèse. *Bul. Soc. Chim.*, 1908, (4), 3 ; *Inst. Pasteur Ann.*, 22, 381. — Sur un nouveau chromogène cristallisé l'esculétol. *C. R. Ac. Sc.*, 1924, 178, 1233. — Sur l'existence de diastases oxydantes chez les végétaux et sur quelques cas où elles interviennent. *Ann. agr.*, 1896, 21, 116.

(2) BERTRAND (Gab.). — Sur l'existence de diastases oxydantes chez les végétaux et sur quelques cas où elles interviennent. *Loc. cit.* — Sur l'action oxydante des sels manganéux et sur la constitution chimique des oxydases. *Loc. cit.* — Nouvelles recherches sur les ferments oxydants. *Loc. cit.*

b) *Réaction avec le gaïacol en présence d'eau oxygénée.*

Si on dilue dans un tube à essai 2 à 3 gouttes de latex et 5 cm³ d'eau, puis quelques gouttes de solution de gaïacol et d'eau oxygénée, on obtient une coloration bleue, il y a donc une peroxydiastase. On peut remarquer d'abord un renforcement de la coloration qui de rosée (en opérant sur du latex dilué dans l'eau) devient rouge foncé (formation d'acide gaïaconique), puis bleu (ozonide de condensation).

c) *Observations expérimentales sur le latex brut.*

1° Si le latex est conservé à l'état liquide sans antiseptique, il dépose peu à peu au bout de quelques mois, puis le dépôt prend une teinte brune d'où il n'est possible de retirer qu'une quantité infime de matière tannante à noyau catéchique.

2° S'il a été recueilli dans l'alcool bouillant, il dépose et rougit moins vite ; l'analyse chimique y décèle une quantité beaucoup plus importante de catéchol cristallisé que dans le latex recueilli et conservé naturel.

d) *Observations expérimentales d'oxydations sur le catéchol cristallisé.*

Les cristaux exposés à l'air s'effleurissent et jaunissent, puis brunissent de plus en plus.

Quand les cristaux sont exposés à l'air avec une trace de latex frais, la masse brunit rapidement.

On peut relever les observations suivantes (1) : le pyrogallol et le latex donnent des aiguilles orangées. La pyrocatéchine, avec le latex, brunit.

Le naphthol- α et le latex donnent une coloration bleue.

La paraphénylènediamine donne une coloration bleue d'indophénol, par mélange avec une goutte de latex frais.

(1) BERTRAND (Gab.). — Rapports entre la constitution chimique des composés organiques et leur oxydabilité sous l'influence de la laccase. *C. R. Ac. Sc.*, 1896, 122, 1132 ; *Bull. Soc. Chim.*, 1896, 3, 15 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 1896, 2.

Ces transformations sont rapides en présence d'eau oxygénée.

On peut donc en conclure que si le phénol catéchique jaunit et brunit lentement à l'air par oxydation spontanée, dans le latex frais, le polyphénol subit l'action d'une peroxydiastase (oxydoréductase) qui active son oxydation ; il est possible de reproduire expérimentalement cette activation.

L'oxydation de toute la masse de catéchol dans le latex demande plusieurs mois ; c'est ce qui permet d'en déceler une quantité notable dans le latex frais ou recueilli dans l'alcool bouillant et une quantité infime dans le latex vieux.

La coloration rouge du latex frais est due à une oxydation progressive du catéchol pentoxyflavonique incolore ou jaune clair dans la plante, donnant ensuite des dérivés fortement colorés, des dérivés hydratés (1).

II. — RECHERCHE ET CARATÉRISATION DES PROTÉASES ET DU LAB-FERMENT (2).

Quand on verse dans un tube contenant quelques cm³ de lait pur et frais, quelques gouttes de latex, il se produit un précipité cailleboté rosé. Le latex contenant des tanins catéchiques et ayant une réaction acide, il y aura lieu de faire la recherche des ferments seulement après avoir éliminé ces deux causes d'erreurs.

De plus le mélange de lait et de latex se prête admirablement à une abondante production de micro-organismes ; des réactions faites par ailleurs ont démontré

(1) Dans les végétaux où il a été possible de caractériser un catéchol, dans le Gambir catéchu, dans le cacao, dans la Kola, dans le Paulinia, il y a lieu de penser qu'il existe un tel système d'oxydation. Biggs a remarqué dans ses recherches sur le cacao qu'il est nécessaire de détruire tous les ferments des graines fraîches pour pouvoir caractériser le catéchol à l'état cristallisé.

(2) JAVILLIER (M.). — Contribution à l'étude de la présure chez les végétaux. *Th. Diplôme Sup. Pharm.*, 1904.

DUCLAUX. — Le lait. Paris, 1894. — Action de la présure sur le lait. *C. R. Ac. Sc.*, 1884, 98, 528. — Mémoires sur le lait. *An. Inst. Agron.*, 1882.

que spécialement les *Pénicillium* s'y développent en abondance. Il y aura donc lieu d'empêcher dans nos recherches du lab-ferment naturel du latex, toute source nouvelle d'un tel ferment.

RECHERCHE DU LAB-FERMENT.

Technique : 1° Neutralisation de l'acidité naturelle du latex au moyen d'une solution de soude diluée.

Cette neutralisation doit d'abord être calculée par un essai sur une petite quantité, connue exactement, de latex ; elle doit être faite avec une solution de soude à 1 p. 100 et avec prudence : une addition trop forte ou trop brusque noircit le milieu ; d'autre part les travaux de MM. MORGENROTH, JAVILLIER, GERBER ont montré que les présures végétales sont sensibles aux alcalis (1).

2° Addition au milieu d'une solution de chloropicrine à 1 p. 100, (2) dans la proportion de 5 cm³ de cette solution pour 2 cm³,5 de latex.

3° Mise à l'étuve :

a) Tubes de milieu ainsi préparés et additionnés de lait à parties égales.

b) Tubes de milieu sans lait, servant de tubes témoins.

c) Mise à l'étuve de tubes contenant du lait seul.

d) Mise à l'étuve d'un mélange de lait et latex stérilisé à l'autoclave.

Les tubes sont enfin mis à l'étuve à 37° pendant 24 heures.

ETUDE DE LA RÉACTION.

Etude et séparation des produits de réaction.

On observe assez rapidement, environ en une heure, que les tubes n° 1 contenant le lait, le latex, le produit

(1) JAVILLIER. — Contribution à l'étude de la Présure chez les végétaux. *Loc. cit.*

GERBER et MORGENROTH. — Cf. Bibliographie.

(2) BERTRAND (G.). — Chloropicrine et ferments solubles. *C. R.*, 1920, 171 ; *C. R. Ac. Sc.*, 1920, 170, 1468 ; 1920, 170, 1358.

antiseptique présentent des flocons de coagulum lourd tombant au fond des tubes.

Les flocons de coagulum sont solubles dans la soude, et à partir du liquide clair, une précipitation abondante albumineuse par la chaleur ou le réactif de NESSLER, peut être facilement obtenue.

ETUDE DU LAB-FERMENT ET DE SES CONDITIONS OPTIMA DE RÉACTION (1).

1° Action des Alcalis.

Si l'on répète les réactions précédentes en préparant des tubes contenant des doses de plus en plus importantes d'alcalis, on observe que l'optimum d'activité correspond à un pH de 6, 8, et que la diastase est encore active dans l'alcalinité franche.

Tableau résumant le résultat des expériences des milieux de pH différents.

pH	Temps de coagulation
5	12 heures
5,5	10 heures
6	5 heures
6,5	2 heures
6,8	50 minutes
7	1 heure
7,5	1 heure 1/2
8	5 heures

2° Action de l'Ion Calcium.

Si, à du latex pur et préparé suivant les conditions déterminées précédemment, on ajoute une quantité calculée d'oxalate de potassium suffisante pour précipiter toute la chaux, il n'y a pas de coagulation.

(1) ARTHUS et PAGÈS. — Recherches sur l'action du Lab-ferment et la coagulation du lait. *Arch. Physiol.*, 1890, II, 331. — Recherches sur le Lab-ferment et la digestion du lait. *Arch. Physiol.*, 1890, II, 540. — Un exemple de l'activité spécifique de la muqueuse gastrique et du pouvoir labogénique du lait. *C. R. Soc. Biol.*, 1903, 55, 795.

Si on chauffe le mélange latex + lait + oxalate (préparé comme il est dit précédemment et mis en réaction à l'étuve pendant 2 heures sans coagulation) il y a précipitation assez abondante à 60° et plus abondante à 95°. Cette précipitation se fait également si on ajoute au même milieu du chlorure de calcium (1).

Si on prépare des milieux avec :

1° Groupe : lait + latex (milieu acide et milieu alcalin faible)

2° Groupe : lait + latex + oxalate de potasse (milieu acide et milieu alcalin faible),

l'action prolongée du latex rend le groupe 2 aussi coagulable par la chaleur que le groupe 1. Après 1 ou 2 jours de contact, cette coagulation peut se faire également par addition de chlorure de calcium.

3° Action des Sels.

Les solutions concentrées de fluorures et d'oxalates empêchent la réaction diastasique. Les Bicarbonates de soude et de potasse la favorisent.

4° Action de la température (2).

Si l'on fait la réaction au bain-marie à diverses températures, on observe que la réaction diastasique est,

- (1) HAMMARSTEN. — *Jaresber. der Thierchemie*, 1872, 118 ; 1874, 135 ; 1877, 158.
EMMERLING. — Die Einwirkung des Sonnenlichts auf die Enzyme. *Ber. der d. Ch. Ges.*, 1901, 34, 3814.
ARTHUS et PAGÈS. — Cf. Bibliographie.
M. JAVILLIER. — Cf. Bibliographie.
M. DUCLAUX. — Cf. Bibliographie.
- (2) BERTRAND (Gab.). — Influence de la chaleur sur les diastases. *Bull. Soc. Chim.*, 1921, 29, 252. — Influence de la température sur l'activité de la cellase. *C. R. Ac. Sc.*, 1911, 153, 1515.
JAVILLIER (M.). — Contribution à l'étude de la présure chez les végétaux. Paris, Joanin et Cie, 1903 ; *Th. Pharm. Sup.*, 16 janv. 1904, Ec. Sup. Pharm. Paris.
MORGENROTH. — Ueber den Antikörper des Labenzyme. *Centralblatt für Bakt.*, 1899, (1), 26, 349. — Zur Kenntniss der Labenzyme und ihrer antikörper. *Centralblatt für Bakt.*, 1900, (2), 27, 721.
PARMENTIER et DEYEUX. — Précis d'expériences et observations sur les différentes espèces de lait (1798-1799).

comme il est habituel, sensible à la chaleur. L'optimum est à environ 39°-40°.

Température	Temps de coagulation
20°	2 heures
25°	1 heure 1/2
30°	65'
37°	60'
38°	50'
40°	51'
41°	65'
45°	70'

5° Influence du chauffage préalable du latex.

Le chauffage préalable a une importance considérable et la zone où la coagulation peut se faire après chauffage est très limitée comme l'indique le tableau suivant :

Latex chauffé préalablement et maintenu à :	Temps de coagulation
30°	55'
35°	55'
40°	50'
50°	70'
60°	80'
70°	120'

La réaction devient rapidement longue et impossible.

6° Action des Antiseptiques.

En préparant des tubes contenant les uns du thymol, les autres du chloroforme, les autres de l'éther, on a observé que le thymol, le chloroforme, l'éther, gênaient peu la réaction. L'iode, les sels mercuriels, la gênent considérablement.

L'acide chlorhydrique en petite quantité empêche les réactions (1).

(1) Gab. BERTRAND. — Recherche sur l'action paralysante exercée par certains acides sur la peroxydiastase. *Bull. Soc. Chim.*, 1909, (4), 5, 296. — Influence paralysante de certains acides sur la laccase. *Bull. Soc. Chim.*, 1907, 1120.

KORSCHUN. — Ueber Lab und Antilab. *Z. für physiol. Ch.*, 1902, 36, 141. — Sind im Lab-molekül mehrere funktionierende Gruppen anzunehmen ? *Z. für physiol. Ch.*, 1903, 37, 366.

III. — PRÉSENCE D'UNE PROTÉASE AGISSANT EN MILIEU NEUTRE.

Si on laisse les tubes en expérience et en observation dans l'étuve, on voit au bout de 4 ou 5 jours, les agglomérés de caséine se dissocier et peu à peu se dissoudre.

Le latex contient donc une caséase agissant en milieu neutre ou légèrement alcalin.

ETUDE DES PRODUITS DE DÉDOUBLEMENT SOUS L'ACTION DE LA PROTÉASE AGISSANT DANS UN MILIEU ALCALIN.

L'action d'une telle protéase a été mise en évidence par la recherche et la caractérisation des produits de dédoublement de la caséine ; caractérisation faite par des procédés physiques ou chimiques suivants :

- 1° par précipitation avec l'acide phosphotungstique.
- 2° la solution sans action sur la lumière polarisée dévie légèrement, après action du latex, vers la gauche.
- 3° la réaction de la tyrosine est positive par la technique suivante :

Par action de la tyrosinase sur la tyrosine, on obtient une coloration rouge, puis noire. Donc, à une solution d'une peptone trypsique, on ajoute une petite quantité de tyrosinase (macération glycérinée de russules).

A la surface du liquide on a une coloration rouge, virant petit à petit au noir. Avec les produits de digestion pepsique, on a bien une coloration rouge, mais qui vire au vert.

Pour le tryptophane, aux produits d'hydolyse trypsique on ajoute quelques gouttes d'eau de brome : on obtient un précipité jaune rougeâtre qui se dissout, et le liquide prend une teinte violacée.

Cette réaction, avec un liquide de digestion pepsique, donne un léger louche et une coloration jaunâtre sale.

- 4° L'azote (en combinaison soluble) combinable avec le formol augmente rapidement.

Avec des milieux en digestion depuis huit jours, on obtient jusqu'à 50 p. 100 d'azote titrable au formol par rapport à l'azote total.

5° La mise en réaction du latex avec l'alanylglycine a donné un faible résultat, mesuré par l'augmentation de la quantité d'azote réagissant au formol (1).

IV. — RECHERCHES DES PROTÉASES ACTIVES EN MILIEU ACIDE.

Quand on maintient à l'étuve à 37° pendant 5 à 6 heures un mélange de latex et de blanc d'œuf, ou de solution de fibrine, on constate que le flocculum produit par un tel mélange (auquel on a ajouté une petite quantité de Chloropicrine comme antiseptique) devient moins épais et au bout de trois à quatre jours se liquéfie peu à peu.

Dans le but de rechercher la présence d'une protéase active en milieu acide, nous avons opéré sur l'extrait sec de latex et avons cherché à extraire et purifier dans une certaine mesure le ferment par deux procédés :

1° Macération de la poudre dans de l'eau glycinée.

2° Emploi du dialyseur qui a donné de meilleurs résultats. Les sucres, les tanins, les colorants catéchiques sont dialysés au bout d'un mois.

Dans le dialyseur reste un précipité rougeâtre dont les réactions sont encore plus nettes, on le purifie par lavages.

ETUDE DE LA RÉACTION DIASTASIQUE.

On peut observer la marche de la réaction diastasique par la solubilisation de cubes ou de cylindres de blancs d'œufs coagulés, ou par la disparition du pouvoir de coagulation à chaud du milieu (albumine + diastase)

(1) M. JAVILLIER. — Cf. Bibliographie.

ou par la variation du pouvoir rotatoire ou par la variation de viscosité.

La première de ces méthodes a été choisie pour nos essais. C'est la méthode de METT, nom du physiologiste qui l'a préconisée.

Technique de METT : On prend un tube de verre de 1 à 2 centimètres de diamètre. On le remplit avec de l'albumine d'œuf, on coagule à 95°. On découpe ensuite le tube en petits morceaux de 10 cm. On plonge dans le liquide de digestion, on suit les différentes périodes, on mesure les longueurs d'albumine digérée, longueurs qui sont en relations avec l'activité du milieu.

Il est possible également de colorer l'albumine avec de la fuschine qui se trouve libérée par la solubilisation de l'albumine et colore plus ou moins le milieu.

TECHNIQUE POUR LA DÉTERMINATION DU TITRE D'UNE PEPSINE.

Résultats obtenus avec le latex.

Le titre d'une pepsine est le nombre de grammes de fibrine fraîche qu'un gramme de pepsine est, en 6 heures, à la température de 50° dans des conditions données d'acidité, susceptible de convertir en produits incoagulables par l'acide azotique.

Une pepsine sera au titre de 50 quand elle sera capable de digérer 50 fois son poids de fibrine.

Technique : Dans un flacon, on met 10 grammes de fibrine fraîche + 60 g. d'une dilution de HCl à 1 p. 100. On maintient au bain-marie à 50° pendant 6 heures. On introduit la pepsine ; on fait une série d'essais en ajoutant 20 gouttes de NO₃H à chaque essai.

Pour 0 g.,33, 0 g.,26, 0 g.,20 de pepsine, pas de précipité.

Pour 0 g.,16, précipité.

Le titre de cette pepsine est donc compris entre 0,16 et 0,20 ; c'est à dire entre 50 et 60.

Nous avons mesuré le titre de notre pepsine après en avoir préparé 0 g.,50 après de longues dialyses.

La pepsine obtenue est une poudre blanchâtre, soluble dans l'eau en donnant une solution légèrement mousseuse.

Les essais de cette pepsine végétale, faits suivant la technique donnée, nous ont montré que son titre est entre 10-20.

Tableau résumant l'analyse du latex (recueilli dans l'alcool).

Extrait sec	37 à 35 p. 100
Eau	63 à 65 p. 100
Saponines	20 p. 100
Catéchines cristallisables	5 p. 100
Matières tanniques	5 p. 100
(ayant le noyau catéchique).	
Sels minéraux	0 g.,25
Ferments solubles	présence

CHAPITRE V.

Essais physiologiques et bactériologiques des composés retirés du latex.

1° ESSAI PHYSIOLOGIQUE DE LA CATÉCHINE.

Les catéchines de la kola, du cacao, du quebrako ont été l'objet de recherches physiologiques dont nous nous sommes inspirés pour nos essais (1).

D'autre part, la recherche du pouvoir vasoconstricteur a été faite par les procédés suivants :

A) Mesure du pouvoir vasoconstricteur par injection de substance et mesure de la pression artérielle. Résultat négatif.

B) Mesure sur un organe entier (rate de chien). Aucun pouvoir vasoconstricteur n'a pu être décelé par cette méthode.

2° ESSAI PHYSIOLOGIQUE DE LA SAPONINE.

A) Essai d'hémolyse *in vitro*. La saponine isolée du latex est capable d'hémolyser *in vitro*, à concentration élevée, les globules de sang humain par le procédé décrit dans un chapitre précédent.

B) Etude de la diurèse chez le chien par absorption per os. Elle augmente de 20 p. 100 la diurèse chez le chien, à la dose de 0 g.,25 par jour et par kilo.

(1) GORIS. — C. R. Ac. Sc., 1908 ; cf. Bibliographie.

3° ESSAI SUR L'ACTIVITÉ ANTISEPTIQUE DE LA CATÉCHINE.

Nous avons recherché l'activité antiseptique de la catéchine cristallisée du cachou et de la catéchine cristallisée du croton. Ces substances ont été ajoutées à des bouillons de culture et à des milieux à la gélose qui ensuite ont étéensemencés avec des cultures pures de staphylocoques blancs. A la suite de ces expériences il résulte :

a) Les milieux très concentrés en catéchine cristallisée ont un léger pouvoir antiseptique (milieux à 20 p. 100) (1).

b) Les milieux dilués n'en ont aucun (milieux à 1 p. 100). Ils sont même activants à une dilution à 1 p. 1.000.

c) Le latex total sec a un pouvoir antiseptique net, (milieux à 10 p. 100). La saponine agit sans doute physiquement sur les corps microbiens pour augmenter le pouvoir de pénétration du pentadihydroxyflavanol.

4° ESSAIS PHYSIQUES.

Une quantité de saponine agitée avec du sang humain dans la proportion de 1 pour 5.000 en diminue la tension superficielle d'une quantité faible mais appréciable (dans la proportion de 1 g. de savon médicinal pour 3 litres d'eau).

(1) Empiriquement le latex de *Croton Gossypifolius* a été reconnu de tous temps comme améliorant et parfois guérissant la pyorrhée alvéolaire et la gengivite scorbutique. Un des buts primitifs de cette étude a été la recherche scientifique de l'agent thérapeutique de ces infections. Or, si le catéchol isolé possède un certain pouvoir antiseptique, il possède un pouvoir oxydo-réducteur extrêmement puissant, ce qui le rapproche de l'acide ascorbique (vitamine C) et explique la guérison des gengivites scorbutiques.

CONCLUSION.

L'étude des propriétés physiques, biochimiques et physiologiques du latex d'une plante tropicale (Tropiques américains) a fait l'objet de nos recherches pendant plusieurs années.

Ce latex appelé dans les pays de l'Amérique Centrale, « Targwa » au Costa-Rica et « Sang Végétal » au Mexique, provient du Croton *Gossypifolius* de la famille des Euphorbiacées ; il est de couleur rouge sang, a un grand pouvoir aphrogène, est antiseptique, il guérit la pyorrhée alvéolaire et les gengivites hémorragiques et, par sa dessiccation sur la peau, réalise une striction superficielle comparable à un effet de vasoconstriction.

L'anatomie de la plante productrice n'a aucun caractère notable en dehors des laticifères et des grands caractères des Euphorbiacées. L'étude physique de ce latex a montré qu'il réalisait une émulsion parfaite de grains d'amidon et de matières colorantes, émulsion colloïdale instable détruite par une trace d'eau ou même par un autre latex, d'âge, de récolte, ou de provenance différents ; émulsion fortement visqueuse de faible tension superficielle (12 à 15 fois plus visqueux que l'eau). Le latex frais ou sec est soluble dans l'alcool, dans l'acétone ; il forme des précipités grumeleux avec l'oxyde d'éthyle.

L'étude chimique du latex décèle une proportion d'eau de 35 p. 100 environ, la présence de calcium, de potassium, de manganèse, de fer, de baryum, et montre surtout qu'il contient comme constituants principaux : des saponines, des catéchines.

La séparation de ces deux groupes de composés a été

réalisée en épuisant le latex au moyen d'une solution éthéro-alcoolique qui précipite les saponines et entraîne les corps à noyau catéchique.

Nous avons dit « des saponines » pour utiliser les anciens termes et expressions chimiques désignant les saponines végétales « acides et neutres » existant dans les milieux végétaux.

Or, suivant les techniques anciennes de KOBERT et de G. MASSON, nous avons en effet, en plus de la séparation par l'éther, précipité les saponines de notre latex par l'acétate neutre de plomb et obtenu un premier précipité ; puis nous avons obtenu un second précipité par l'acétate basique ; mais l'hydrolyse et l'analyse minutieuses de ces deux saponines ont montré leur identité absolue, et nous avons conclu que, dans le latex étudié, la saponine est en combinaison plus ou moins stable avec les éléments du milieu, et précipite plus ou moins facilement, selon les affinités qu'elle a avec les groupes de composants du milieu. Cette conception a été confirmée par l'analyse de deux autres saponines végétales étudiées par nous. L'hydrolyse des saponines isolées a séparé deux sucres : un pentose, le xylose ; un hexose, le glucose et un reste agluconique ayant les caractères des terpènes.

La caractérisation du xylose et du glucose a été faite par les réactions de coloration décrites par BOEYER, MOLISCH, DENIGÈS, BIAL ; une première séparation en a été réalisée par les techniques à l'orcine de M. Gabriel BERTRAND et ensuite par leurs osazones ; de plus, le xylose a été isolé à l'état cristallisé en petits cristaux naviculaires, son pouvoir rotatoire et sa solubilité ont été mesurés, la préparation du xylo-bromure de cadmium réalisée par nous sur le sucre isolé.

Le glucose a été caractérisé par son osazone, son point de fusion, sa fermentescibilité.

De plus, nous avons réalisé la séparation et la caractérisation des composants de la saponine (qui est un hé-

téroside) par la méthode à l'émulsine de Em. BOURQUELOT et aussi la séparation des deux sucres par la fermentation alcoolique.

Enfin l'hétéroside étudié nous laissait un résidu très soluble dans le chloroforme, insoluble dans l'eau (résidu déjà signalé dans les travaux de WINDAUS, de KOFLER, de VAN DER HAAR), ce résidu n'ayant aucun des caractères physiques ou chimiques des sucres, est insoluble dans l'eau, soluble dans le chloroforme, il donne la réaction de PETTENKOFER et l'analyse élémentaire y décèle seulement du carbone et de l'hydrogène ; ce corps se rapproche des terpènes.

Au point de vue physiologique nous avons vu microscopiquement la saponine isolée lyser les globules rouges humains dans des préparations concentrées de gélatine au sang entre lame et lamelle, mais absorbée « per os » cette saponine n'a montré aucune toxicité, elle semble au contraire diurétique, propriété que nous avons attribuée aux sucres d'hydrolyse et à la diminution de la tension superficielle des milieux biologiques où elle s'engage.

Le latex étudié est rouge et toute la matière colorante se retrouve dans la solution éthéro-alcoolique d'épuisement. Après purification et recristallisation on peut en isoler des cristaux brillants qui s'effleurissent et deviennent jaunes à l'air et rouges en milieu légèrement acide.

Ces cristaux fondent à 92° , ils sont peu dextrogyres en milieu alcoolique et atteignent une déviation polarimétrique de $+ 17^{\circ}$ en solution acétonique ; enfin ces cristaux sont hydratés.

Soumis à la fusion alcaline, réalisée à température constante dans la naphthaline fondue selon notre technique, ils donnent toujours les mêmes polyphénols : de la pyrocatéchine et de la phloroglucine. Ces deux corps ont été séparés et caractérisés d'abord par la préparation de leurs éthers méthyliques ; puis la pyrocatéchine, caractérisée par son éther monométhyle, son point d'ébulli-

tion et de fusion, a été séparée du milieu par distillation à l'état d'éther monométhylé. La phloroglucine a été caractérisée à l'état de benzène-azophloroglucine. Le poids et le rapport des deux phénols ont été mesurés par la méthode de ZEISEL à l'iodure de méthyle. La formule du produit sec correspond à $C_{15}H_{14}O_6 = 290$. ; les cristaux contiennent 4 molécules d'eau de cristallisation, la formule des cristaux hydratés correspond à $C_{15}H_{14}O_6 \cdot 4 H_2O = 362$.

Pour établir la structure et la formule développée du corps cristallisé dextrogyre, il a été préparé un composé pentaoxyméthylé, des sels oxonium rouges avec les acides chlorhydrique, chloroplatinique, oxalique, picrique.

Si on réduit le composé cristallisable dextrogyre ou de préférence son éther pentaméthylé par le sodium alcoolique selon la technique indiquée par nous, alors la chaîne s'ouvre en son milieu sur un noyau central, celui portant l'oxygène capable de doubler sa valence ; la réaction donne un composé ayant tous les caractères physiques et chimiques du 2-4-6,3'-4' pentaméthoxy- $\alpha\gamma$ -diphénylpropane préparé synthétiquement, et même les formes cristallines et les mesures cristallographiques des 2 produits sont semblables. Le produit naturel catéchique isolé est capable également de réaliser des oxydations expérimentales sur le bleu de méthylène et le permanganate.

Le composé phénolique cristallisé en aiguilles et dextrogyre possède un noyau pentaoxyflavanique, avec un oxygène capable de doubler sa valence ; une molécule du produit donne par fusion alcaline une molécule de phloroglucine et une molécule de pyrocatechine ; il fond sec à 170° , et ses cristaux hydratés avec $4 H_2O$, fondent à 92° . Son pouvoir rotatoire dextrogyre varie avec le solvant ; il est plus fort en solution acétonique qu'en solution alcoolique.

Tous ces caractères sont ceux d'une catéchine et se rapprochent des propriétés des oxyflavones naturelles

obtenues cristallisées soit par VON KOSTANECKI à partir des matières colorantes florales, soit par KARL FREUDENBERG, COSE, BRAUM, PURRMANN, BIGGS à partir des matières tanantes colorées du Gambir, du Catéchu, du cacao, de la Kola, du Guarana.

Notre poudre cristallisée brute contient à côté de nombreuses aiguilles dextrogyres, de rares cristaux carrés épais, lévogyres qui se sont accumulés peu à peu dans les eaux-mères de préparation de la catéchine dextrogyre décrite ci-dessus. Ces cristaux et surtout leurs éthers méthyliques sont beaucoup plus solubles que les cristaux naturels dextrogyres. De plus, ils fondent secs à 237° , leur pouvoir rotatoire est univalent : il est de -60° dans l'eau, l'acétone, l'alcool et ses divers solvants. Cependant les propriétés chimiques, le poids moléculaire, la formule de constitution, sont semblables à ceux de la catéchine précédente. Il ne s'agit pas d'une variété optique, mais peut-être d'une isomérisie de position et avec FREUDENBERG il convient de conclure que ce corps rentre dans une deuxième classe de catéchine qu'il est convenable de dénommer épicatechine comme dans la nomenclature des glucides où « l'épimérisie produite par la transposition des 2 carbones asymétriques équivaut à une stéréoisomérisie lorsqu'on a affaire à des combinaisons renfermant au moins deux carbones asymétriques », et il est possible avec ces deux corps de répéter l'expérience de FREUDENBERG pour démontrer l'existence de ces deux groupes de catéchines contenant pour chaque groupe 3 variétés optiques.

Les caractères physiques de la catéchine lévogyre isolée par nous se rapprochent de ceux des épicatechines déjà isolées par FREUDENBERG, nous la considérons comme une épicatechine. Pratiquement la variété gauche cristallisée en prismes a été trouvée en plus grande abondance dans les latex anciens ayant légèrement bruni.

A l'occasion de ce travail, nous avons réalisé des composés nouveaux avec le produit dextrogyre isolé : plu-

sieurs groupes de combinaisons sont à signaler, les unes avec l'insuline pour l'obtention de nouveaux composés hypoglycémiants, les autres avec les gélatines, les sérines et certaines toxalbumines ; ce dernier point est remarquable car le noyau oxyflavonique est expérimentalement antiseptique.

La guérison des gengivites infectieuses et hémorragiques est également remarquable, et est à rapprocher du fait que le flavanol isolé a un grand pouvoir oxydoréducteur analogue à celui de l'acide ascorbique.

La catéchine donne une combinaison avec l'iode, l'acétate de plomb, le bichlorure de mercure, le formol, la quinine, la pelletière, la brucine, la digitaline. Le tannin gallique donne des combinaisons avec ces mêmes substances.

Les saponines et les catéchines sont deux groupes de composés d'une bibliographie disparâte et peu écrite en notre langue. Aucune étude de structure sur les catéchines ne peut être trouvée en Français, aussi avons-nous groupé une bibliographie importante des travaux étrangers les meilleurs et cité les principales techniques étrangères.

Enfin puisqu'il s'agit d'un latex et selon la désignation indigène d'un sang végétal, nous avons recherché les ferments et une peroxydiastase (oxydoréductase) a été décelée et l'action couplée de cette peroxydiastase et de l'oxyflavanol isolé cristallisé a été mise en évidence par notre expérimentation ; un lab-ferment et des protéases agissant en milieu neutre, légèrement alcalin et acide ont été caractérisés et étudiés.

BIBLIOGRAPHIE.

- ALBERTI B. — Zum Nachweis von Solanin. *Zeitschr. für Unters. der Lebensm.* 1932, **64**, n° 3, p. 260-262.
- ARNOULD L. et GORIS A. — Action du réactif sulfovanilique de Ronceray sur quelques composés chimiques et quelques végétaux. *Bull. Sc. Pharmacologique* (190-116-191-197).
- ARSO et POZZIESCOT. — *Rev. Gén. de Chim. pure et appl.*, 5, p. 419.
- ARTHUS. — Un exemple de l'activité spécifique de la muqueuse gastrique et du pouvoir labogénique du lait. *C. R. Soc. Biol.*, 1903, **55**, 795.
- ARTHUS et PAGES. — Recherches sur l'action du Lab-ferment et la coagulation du lait. *Arch. de Physiologie*. Masson, éd., Paris. 1890, **2**, p. 331.
- Recherches sur le Lab-ferment et digestion du lait. *Arch. de Physiologie*, 1890, **2**, p. 540.
- ATTFIELD. — *Pharm. Journ.*, 1864-65, **6**, 457-460.
- BAGINSKI A. — Ueber das Vorkommen und Verhalten einiger Fermente. *Z. für Phys. Chemie.* 1883, **7**, p. 209.
- BARTHE L. — Toxicologie chimique. Vigot fr. éd., Paris, 1919, p. 413, 517, 520.
- BEHAL A. — *Traité de Chimie organique* 2° éd. O. Doin, éd., Paris 1902, **2**, p. 899.
- BERNEGAU. — Studien Über die Kolanus. *Ber. d. d. Pharm. Gesell.*, 1908, **18**, 490 ; *Ber. d. Deutsch. pharm. Gess. Ch.*, 1908, 468 ; *Apotek Zeit.*, 1910, 726.
- BERTHEMOT et DECHASTELUS. — *Journal de Pharmacie et de Chimie.*, (2 s.) 1840, **26**, p. 518.
- BERTRAND G. — Sur la coloration des tissus et du suc de certains champignons au contact de l'air (avec Em. BOURQUELOT). *J. Pharm. et Ch.*, 1896, (6), **3**, p. 177.
- La coloration du jus de betterave et les ferments solubles oxydants. *Bull. Ass. Chim.*, 1896, **14**, p. 19.
- Action de la tyrosinase sur quelques corps voisins de la tyrosine. *C. R. Ac. Sc.*, 1907, **145**, p. 1352.
- Recherches sur la mélanogénèse. *Bull. Soc. Chim.* 1908, (4), **3**, p. 335 ; *Ann. Inst. Pasteur*, **22**, p. 381 ; *Bull. Soc. Ph.*, **15**, p. 65.

- Sur un nouveau chromogène crist. l'esculétol, retiré du marronnier d'inde. *C. R. Ac. Sc.*, 1924, **178**, p. 1233 ; *Bull. Soc. Chim.*, (4), **35**, p. 1209.
- La teneur des plantes en Aluminium. *C. R. Ac. Sc.*, 1931, **192**, p. 525 ; *Bull. Soc. Chim.*, **49**, p. 1417.
- Présence du Cobalt et du Nickel chez les végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, 1922, **175**, p. 458.
- Le manganèse chez les végétaux. *Rev. Gén. Chim.*, 1905, **8**, p. 205 ; *Bull. Soc. Chim.*, 1911, (4), **9**, p. 361.
- Recherche sur la composition immédiate des tissus végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, 1892, **114**, p. 1492.
- Sur la composition immédiate des tissus ligneux. *Bull. Soc. Chim.*, 1892, (3), **7**, p. 468.
- Sur la présence de la mannocellulose dans le tissu ligneux des plantes gymnospermes. *C. R. Ac. Sc.*, 1899, **129**, p. 1025 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.*, 1899, **5**, p. 431.
- Constitution des tissus ligneux dans divers végétaux. *Bull. Soc. Chim.*, (3), **23**, p. 87.
- Le Lignol. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1932, **14**, p. 984.
- Matières colorantes du Pollen. *C. R. Ac. Sc.*, 1892, **115**, p. 828.
- Le Guarana. *C. R. Ac. Sc.*, 1931, **193**, p. 276 ; *Bull. Soc. Chim.*, 1931, (4), **49**, p. 1093 ; *Bull. Hyg. Alim.*, 1931, **19**, p. 257 ; *C. R. Ac. Sc.*, 1932, **194**.
- Rapports entre la constitution chimique des composés organiques et leur oxydabilité sous l'influence de la laccase. *C. R. Ac. Sc.*, 1896, **122**, p. 1132. ; *Bull. Soc. Chim.*, 1896, **3**, 15 ; *Bull. Mus. Hist. Nat.* 1896, (2).
- Laccase et Tyrosinase chez les champignons. *C. R. Ac.*, 1896, **12**, 3 ; *Bull. Soc. Chim.*, 1896, (3), **15**, p. 1218 ; *Archives Physiol.*, 1896, (3), **8**, p. 23.
- Influence des acides sur l'action de la laccase. *C. R. Ac. Sc.*, 1907, **145**, p. 340.
- Sur une nouvelle oxydase ou ferment soluble oxydant d'origine végétale. *C. R. Ac. Sc.*, 1896, **122**, p. 1215.
- Les ferments oxydants chez les champignons (avec Em. BOURQUELOT). *J. Pharm. et Chim.*, 1896, (3), p. 97.
- Nouvelles recherches sur les ferments oxydants ou oxydases. *Ann. agr.*, 1897, **22**, p. 385.
- Chloropicrine et ferments solubles. *C. R. Ac. Sc.*, 1920, **171**, p. 137 ; *C. R. Ac. Sc.*, 1920, **170**, p. 1468 ; *C. R. Ac. Sc.*, 1920, **170**, p. 1358.
- Le xylose ou sucre de bois. *Thèse Pharm. Sup. Fac. Pharm.*, Paris.
- Recherches sur quelques dérivés du xylose. *Bull. Soc. Chim.*, 1891, (3), **5**, p. 554.
- Constitution de la xylite et du xylose. *Bull. Soc. Chim.* 1891, (3), **5**, p. 740.
- Détermination spécifique du xylose. *Bull. Soc. Chim.*, 1892, **7**, p. 499.

- Sur une nouvelle réaction des Pentoses. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1925, **7**, p. 436.
- Recherche sur l'individualité de la cellase et de l'émulsine. *Bull. Soc. Chim.*, 1910, (4), **7**, p. 998 ; *Ann. Inst. Pasteur*, 1910, **24**, p. 931.
- Influence de la température sur l'activité de la cellase. *C. R. Ac. Sc.*, 1910, **151**, p. 1076 ; *Bull. Soc. Chim.*, 1911, (4), **9**, p. 100.
- Influence de la réaction du milieu sur l'activité de la cellase. Nouveau caractère distinctif avec l'émulsine. *C. R. Ac. Sc.*, 1911, **153**, p. 1515.
- Remarques sur les diastases. *Bull. Soc. Chim.*, 1906, (3), **35**, p. 147 ; *Revue Scientifique*, 15 mai 1909, p. 609.
- Influence de la chaleur sur les diastases. *Bull. Soc. Chim.*, 1921, **29**, 252.
- Action de la chaleur sur l'activité de l'émulsine. *C. R. Ac. Sc.*, 1911, **152**, p. 1518.
- Influence de la température sur l'activité de l'émulsine. *Bull. Soc. Chim.*, 1911, (4), **9**, p. 1071 ; *Ann. Inst. Pasteur* 1911, **26**, p. 161.
- Les ferments solubles ou diastases. *Conférence Rev. Scient.*, mai 1909, p. 609.
- Réaction des sucres à cinq et six atomes de C. *Bull. Soc. Chim.*, 1891, 3^e S., **6**, p. 259.
- Dosages des sucres réducteur. *Bull. Soc. Chim.*, 1906, (3), **35**, p. 285 ; *Bull. Ass. Chim.*, 1907, **24**, p. 1017 ; *Bull. Soc. Ph.*, 1907, **14**, p. 7.
- Activation de la Sucrase par divers acides. *C. R. Ac. Sc.*, 1911, **153**, p. 1515 ; *Bull. Soc. Chim.*, 1912, (4) **11**, p. 176.
- BIGGS. — Stéréoisomérie Catéchin. *Journ. of Am. Chem. Soc.*, 1921, (53), 1500.
- BLANCHET R. — Ueber die Zusammensetzung des Solanins. *Ann. der Pharm.*, 1883, **7**, p. 152-153.
- BODIN et LENORMAND. — Sur la production de caséase par un Streptothryx parasite. *Ann. Inst. Pasteur*, 1901, **15**, p. 285.
- BOEYER A. — *Lieb. Ann.* 1872 et 1890.
- BOUCHUT. — Sur un ferment digestif contenu dans le suc de figuier. *C. R. Ac. Sc.*, 1880, **91**, p. 67.
- BOULLANGER. — Contribution à l'étude de quelques levures de bière. *Ann. Inst. Pasteur*, 1896, **10**, p. 598.
- BOUCQUET J. — Documents sur la matière médicale indigène dans l'Afrique du Nord. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1921, **28**, p. 35.
- BOURQUELOT Em. — Etude sur la fermentation des deux sucres. *Ann. Chim. Phys.*, 6^e S., **9**.

- Exposé des Travaux. Declume, éd. à Lons-le-Saunier, 1897.
- Les ferments solubles. Paris 1896. *Fac. Pharm. Paris* ; vol. n^{os} 14938, 14939, 22435.
- Fermentation. *J. Pharm. et Ch.*, 1914, **10** et **24**, 1906.
- BOURQUELOT et BRIDEL. — *Ann. Phys. et Chim.*, 1913, vol. 28.
- BOURQUELOT et HÉRISSEY. — Sur la présence d'un ferment soluble protéohydrolique dans les champignons. *Bull. Soc. Mycologique de France*, 1899, **15**, p. 60.
- BRIOT. — Sur l'existence dans le sang des animaux d'une substance empêchant l'action de la présure sur le lait. *C. R. Ac. Sc.*, 1899, **128**, p. 1359 et *Thèse Doct. ès Sc. Nat.*, Paris 1900.
- BÜCHNER. — *Pharmaceutisches Centralblatt*. 1833, 629.
- CAMUS et GLEY. — Persistance d'activité de la présure à des températures basses ou élevées. *C. R. Ac. Sc.*, 1897, **125**, p. 256.
- CAZENEUVE. — Acajou (La couleur de l'). *Bull. Soc. Ch.* (2), **24**, 118.
- CAZENEUVE et BRETEAU P. — Sur la Solanine. *C. R. Ac. Sc.*, 1899, **128**, p. 887-890 ; *Journal Pharmacie et Chimie* 1899, 3 s., **21**, p. 428-431.
- CAZENEUVE et HADDON. — Catéchines. *C. R. Ac. Sc.*, **124**, 1458.
- CAZIN F. J. et CAZIN H. — *Traité pratique et raisonné des plantes médicinales indigènes*. Asselin et Houzeau éd., 4^e et 5^e éd. Paris 1876 et 1886, p. 402.
- CHEVALLIER. — Les Bois du Gabon. *Bull. Sc. Pharm.* Paris, p. 11, 108.
- CHEVALLIER. — Les Bois de la Côte d'Ivoire. *Bull. Sc. Pharm.* 1909, p. 11, 108.
- CHITTENDEN. — On the protéolytic Action of Bromelin, the ferment of pineapple Juice. *Journ. of physiology*, 1894, **15**, p. 249.
- CLAUSER. — Catéchines. *Ber.*, 36-102.
- COLOMBANO Amedeo. — Sulla Solanina estratta dei germi del *Solanum tuberosum*. *Linn. Atti R. Accad. dei Lincei*, 1907, (5^e s.) **16**, II p. 683-690 ; *Gazz. Chim. Ital.*, 1908, **38**, 1, p. 10-37.
- COHNHEIM. — Die Umwandlung des Eiweiss durch die Darmwand. *Zur für physiolog. Chemie*, 1901, **33**, p. 451 ; 1902, **35**, p. 134 ; 1902, **36**, p. 13.
- DARWIN. — *Insectivorous Plants*. Traduction Franç. de Ed. Barbier. Les plantes insectivores. Paris Reinwald, 1877, p. 125.
- DE CANDOLLE. — *Prodomus systematis naturalis regni vegetabilis Parisiis*, V. Masson éd., 1852, **13**, 1^{re} partie, p. 366.

- DECKER. — Die Gerbstoffe. Berlin 1913, S. 368.
- DELEZENNE. — Diverses notes in : *C. R. S. Biologie*. 1901, **53**, p. 1161-1164 ; 1902, **54**, p. 281-283-431-590-893-998-1076.
- DELEZENNE et FROUIN. — La sécrétion physiologique du Pancréas ne possède pas d'action digestive propre vis à vis de l'albumine. *C. R. S. Biologie*. 1902, **54**, 691.
- DELEZENNE et MOUTON. — Sur la présence d'une érépsine dans les champignons Basidiomycètes. *C. R. S. Biologie*, 1903, **55**, p. 325.
- DELEZENNE et POZERSKI. — Action du sérum sanguin sur la gélatine en présence du chloroforme. *C. R. S. Biologie*, 1903, **55**, p. 327.
Action protéolytique du sérum sanguin préalablement traité par le chloroforme. *C. R. S. Biologie*, 1903, **55**, p. 690.
- DELFFS W. — Ueber die Formel des Solanins Neues Jahrb. für prakt. Pharm., 1859, **2**, p. 356-358.
- DENIGÈS. — Chimie analytique. Maloine éd. Paris.
- DRAGENDORFF G. — Die Heilpflanzen ; Stuttgart, 1898, p. 592.
- DUCLAUX. — Traité de Microbiologie. Paris, 1899, **2**.
Mémoires sur le lait. — *Ann. Inst. agronomique* 1882.
Action de la présure sur le lait. *C. R. Ac. Sc.* 1884, **98**, p. 528. *Le Lait*, Paris 1894.
- EMMERLING. — Die Einwirkung des Sonnenlichts auf die Enzyme. *Ber. der. d. Ch. Ges.*, 1901, **34**, p. 3814.
- FERMI et BUSCAGLIONI. — Die proteolytischen Enzyme im Pflanzenreich. Centralblatt für Bakt. 1899, tome **5**, p. 24-63-91-125-145.
- FIRBAS Richard. — Ueber die in den Trieben von Solanum tuberosum enthaltenen Basen Monatsh. für Chemie, 1889, **10**, p. 541-560.
- FOURNIER. — Journ. de Pharmacie de Chimie, (3) 1861, **39**, p. 291.
- FRANÇOIS. — Huile de bois de Chine. *Bull. Sc. Pharm.*, 1933, 43044.
Huile de bois de Chine. Thèse F. Pharm. Paris 1933. *Bull. Sc. Pharm.* p. 30310.
- FREUDENBERG. — Berichte, 1919, **52**, 177.
Berichte, 1920, **53**, 1416, 1728.
Berichte, 1921, **54**, 1204.
Berichte, 1922, **55**, 1734, 1938.
Berichte, 1923, **56**, 1185, 2127.
- FREUDENBERG et PURRMANN. — *Lieb. Ann.* 1924, **436**, 286 ; 1924, **437**, 274 ; 1924, **440**, 36 ; 1925, **441**, 157 ; 1925, **442**, 309 ; 1925, **444**, 135 ; 1926, **446**, 87 ; 1927, **451**, 209-213 ; 1930, **483**, 140.

- FREUDENBERG, COSE et BRAUM. — *Journ. Amer. Soc.*, 1932, **54**, 1913.
- FREUDENBERG et RASCHIG. — *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1929, **62**, 373.
- FOSSE R. — Les fonctions xanthyles et sels de pyrile. Presses universitaires Paris 1928. — Conférences Lab. Ch. Org. Sorbonne Prof. HALLER. *Bibl. Fac. Ph.* Paris, n° 23.063.
- FRIEDEL Ch. — Conférences de chimie 1888-1889 E. GARRE éditeur Paris. — Cours de minéralogie Masson éd. 1893. — Fonctions aldéhyde et cétones. *An. Ch. et phys.* 4^e série vol. 16.
- GAULTIER A. — Catéchine. *Bull. Soc. Chim.*, 1878, **30**, 567. Acide ampélochromique. *Bull. Soc. Ch.*, 1892, 4^e S.
- GERET et HAHN. — *Ber. d. d. Ch. Ges.*, 1898, **31**, p. 202.
- GMELIN OTTO. — Ueber die Constitution des Solanins. *Ann. der Chem. und Pharm.*, 1859, **110**, p. 167-176.
- GORIS. — Sur un nouveau principe cristallisé de la kola fraîche. *Bull. Sc. Pharm.*, 1907, **14**, 640. — *Bull. Sc. Pharm.* 1910, **17**, 559. — Kolatine. *Bull. Sc. Pharm.*, 1910, 607. — *Bull. Sc. Pharm.*, 1912, **18**, 138. — *Ber. Deutsch. ph. Gess.*, 1908, 18.345. Nouveau principe de la noix de kola fraîche. *C. R. Ac. Sc.*, 1907, **145**, p. 354 ; 1908, II, p. 1109 ; 1907, **144**, p. 1163 ; 1912, **1**, 266.
- GORTE O. — Dissertation Erlangen, 1903, 1902.
- GORTER. — Beitrag zur Kenntnis des Kaffees. *Lieb. Ann.*, 1907, **358**, p. 327 ; 1908, **359**, p. 217 ; 1910, **372**, p. 237.
- GRAF. — *Zeitschr. F. Angew. Chem.*, 1901, p. 1077.
- GREENE. — *Amer. Journ. Pharm.*, **7**, p. 388.
- GRENN. — On the germination of the Castor-Oil Plant. (*Ricinus communis*) *Proc. Roy. Soc.*, 1891, **48**, p. 391. On vegetable ferments. *Annals of Botany*, 1893, **7**.
- GRIEBEL. — Ueber den Kaffeegerbstoff. Dissert. Munich. 1903.
- HAMMARSTEN. — Jaresber-der Thierchiemie. 1872, **123**, p. 118 — 1874 p. 135 — 1877 p. 158.
- HAMMERSNICK. — Matière col. Végétale. 1916, 34.753.
- HARLAY. — De l'application de la tyrosinase à l'étude des ferments protéolytiques. Th. Doct. Univ. Paris 1900.
- HAUY. — Cristallographie. *Bib. Inst. Cath.*, rue Vaugirard Paris.
- HEBERT. — Sucres Osazones. *C. R. Ac. Sc.* **110**, p. 969.
- HECKEL et SCHLAGDENHAUFFEN. — *Journ. Chim. et Pharm.*, **5**, 8, 177.
- HEIDUSCHKA A. et SIEGER H. — Beiträge zur Kenntnis des Solanins. *Arch. der. Pharm.*, 1917, **255**, p. 18-44.

- HERMANN Paul. — Horti academici Lugluno-batavi Catalogus. Leyde, 1687, p. 573-574 et pL. 575.
- HILGER A. — Ueber Solanin und seine Zersetzungsproducte. *Ann. der Chem. und Pharm.*, 1879, **195**, p. 317-325. *Pharm. Zeit.*, **38**, p. 511.
- HILGER et MERKENS W. — Ueber Solanin. *Ber. d. d. Chem. Gess.*, 1903, **36**, 3, p. 3204-3206.
- HLASIWETZ. — *Lieb. Ann.*, 142, 219.
- HLASIWETZ et MALY. — *Journ. Chim. min.*, 1867, p. 732.
- JAMIESON G. S. et BAILEY H. S. — American tomato seed Oil. *Journ. of Indust. and engineering Chem.*, 1919, **11**, p. 850-852.
- JAUFFRET. — Bois exotiques. Vol. 31. 084. Fac. Pharm. Paris.
- JAVILLIER M. — Sur la recherche et la présence de la présure chez les végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, 1902, **134**, p. 1373. Sur quelques ferments protéolytiques associés à la présure chez les végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, 1903, **136**, p. 1765. Contribution à l'étude de la présure chez les végétaux. Thèse Pharm. Sup. Paris 1904, Joannin et Cie éd. Des ferments protéolytiques et des produits pharmaceutiques qui dérivent de leur action. Thèse présentée au concours d'agrégation du 3 mai 1909 (Section Hist. Naturelle et pharm.) Ec. Pharm. Paris. Recherches sur la présence et le rôle du zinc chez les végétaux. Thèse Doctorat ès Sciences Paris 1908, Declume éd. Lons-le-Saunier.
- JAVILLIER M. et GUERITHAULT B. — Sur la distinction des peptones médicinales d'origine pepsique et d'origine pancréatique. *Bull. Sc. Pharm.*, 1910, **17**, p. 63.
- KINOR. — De la République Argentine. Travaux du Muséum de Pharmacologie de la Faculté de Buenos-Aires.
- KLEIN. — Handbuch der Pflanzenanalyse **2-3**, p. 358 et la suite.
- KLETZINSKY V. — Ueber Solanin. Mitt. aus d. Geb. d. reinen und angew. Chem., Wien, 1866, in : *Zeitschr. für Chem.*, 1866, (nouv. s) **2**, p. 127-128.
- KLIMONT J. — Ueber vegetabilische Kriegsöle. *Pharm. Post.* 1918, **51**, p. 561-562 ; *Chem. Zentralbl.*, 1918, **2**, (5 s.) 62, p. 735.
- KOBERT R. — Die Saponinen. Arbeiten des pharmakol. Institutes zu Dorpat, 1891-1896, **6**, **13**, **14**. Neue Beiträge zur Kenntnis der Saponine substanzen. **2** et **3**. Beiträge zur Kenntnis der Saponinepflanzen I. Stuttgart (1904). Die Saponingruppe, in : A. HEFFTER, Handbuch der experimentellen Pharmakologie, 1924, **2**, 2, p. 1476-1520.

- KOCK. — D. Chem. Gessels., 20, p. 145.
- KOFLER L. — Art. « Saponin », in : Handbuch der Pflanzenanalyse, de G. KLEIN, **3**, 2, 2, Wien, 1932, p. 1095-1132.
- Sind Saponine in Lebensmitteln gesundheitschädlich ?
Zeitschr. für Unters. der Lebensm., 1932, **63**, p. 154-166.
- Id. Deutsche med. Wochenschr., 1932, **58**, p. 1488.
- KOFLER D. et BRAUNER. — Ueber den unangenehmen Geschmack der Radix Primulae. *Arch. der Pharm.*, 1925, **263**, p. 424-430.
- KOFLER L. et DAFERT. — Ueber das Saponin von Gypsophila paniculata. (Grosse weisse Seifenwurzel). *Ber. d. d. Pharm. Ges.*, 1923, **33**, p. 215-229.
- KOFLER L. et FISCHER R. et NEWSELY H. — Ueber den Nachweis von Saponinen in Arzneimitteln und Lebensmitteln. *Arch. der Pharm.*, 1929, **267**, p. 685-699.
- KOFLER et LAZAR Z. — Ueber den Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf die Saponin-Hämolyse. *Achiv. der Pharm.*, 1927, **265**, p. 610-623.
- KOFLER et KAUREK R. — Ueber den Einfluss von Saponinen auf die Resorption von Strophantin und Digitoxin. *Archiv. f. exp. Path. und Pharmak.*, 1925, **109**, p. 362-369.
- KOFLER L. et RAUM H. — Ueber die Fällbarkeit verschiedener Saponine durch Sterine. *Biochem. Zeitschr.*, 1930, **219**, p. 335-340.
- KOLLERT V. et REZEK. — in : Wasicky R. — Lehrbuch der Physiopharmakognosie. Leipzig und Wien, 1932, **2**, p. 389.
- KORSCHUN. — Ueber Lab und Antilab. *Z. für physiol Chem.*, 1902, **36**, p. 141.
- Sind im Lab-Molekül mehrere funktionirende Gruppen anzunehmen ? *Z. für physiolog. Ch.*, 1903, **37**, p. 366.
- KOSTANECKI. — *Ber.*, 1867, **35**, 2408.
- Ber.*, **39**, 4008 et **40**, 720.
- KOSTANECKI et LAMPE. — *Ber.*, 1907, **40**.
- KOSTANECKI et TAMBOR. — *Ber. d. Chem. Gessels.*, 1902, p. 1867.
- KUNZ-KRAUSE. — *Archiv. d. Pharmacie*, **231**, 613.
- LAZARUS. — Dissert. Erlangen, 1893.
- LINNE C. — Species plantarum. 1^{re} éd. Holmiae, 1753, 1, p. 187 et 188.
- Species plantarum. 4^e édit. (curante Willdenow-Berolini, I, 2^e part., 1797, p. 1043-1044.
- LIEBERMANN et TANCHERT. — *Ber. d. Chem. Gessels.*, **13**, p. 694.

- LEA. — On a rennet ferment contained in the seeds of *Withania coagulans*. *Proc. Roy. Soc.*, 1884, **36**, p. 55.
- LÖRCHER. — *Pflüg. Archiv.*, 1898, **69**, p. 175.
- MALLARD. — *Traité de cristallographie* 2 vol. Dunod éd.
- MARTIUS Th. — *Lieb. Ann.* 36, p. 93.
- MASSON G. — Recherches sur quelques plantes à saponine. Th. Doct. Univ. Paris Pharm., 1910.
- MATIÈRE COLORANTE VÉGÉTALE (La). — O. A. Oesterle. Zurich 1912, *Bibliot. Fac. Pham.* Paris, N° 32.381.
- MILNE-EDWARDS Alphonse. — De la famille des Solanacées. Th. Agrég. Paris, 1864, p. 113 etc...
- MISSAGHI G. — Utile disposizione di un filtro per la separazione di sostanze cristalline imprigionate. in grande quantità di materia estrattiva. *Gazz. chim. ital.*, 1875, **5**, p. 416-417.
- MULDER. — *Pogg. Ann.* **43**, 161.
- MALFITANO. — La protéolyse chez l'*Aspergillus niger*. *Ann. Inst. Past.*, 1900, **14**, p. 60.
 Sur la protéase de l'*aspergillus niger*. *Ann. Inst. Past.*, t. **14**, p. 420, 1900.
 Sur la dissociation du pouvoir albuminolytique et du pouvoir gélatinolytique de la protéase charbonneuse. *C. R. S. Biologie*, 1903, **55**, p. 843.
- MAYER. — *Die Lehre von den Chem Fermenten*, 1882, p. 6.
- MESNIL. — Recherches sur la digestion intra-cellulaire et les diastases des actinies. *Ann. Inst. Past.*, 1901, **15**, p. 384.
- MORGENROTH. — Ueber den Antikörper des Labenzyme. *Centralblatt für Bakt.* (I) 1899, **26**, p. 349.
 Zur kenntniss der Labenzyme und ihrer antikörper. *Centralblatt für Bakt.* (II) 1900, **27**, p. 721.
- NEUBAUER. — *Lieb. Ann.* **96**, p. 337.
- OEHLER Fr. — *Lieb. Ann.*, 1930, **483** ; *Lieb. Ann.*, 1930, **477**.
- ONDRIY. — *Mag. Pharm.* **19**, 49.
- OPPENHEIMER. — *Die Fermente und ihre Wirkungen*. Leipzig 1900, p. 149.
- OTTO J. et R. — Recherche des poisons — traduction par Strohl. Masson, édit. 1869.
 Recherche des poisons — Traduction par Strohl. Masson édit. 1872.
- OTTO R. — Introduction de la recherche des poisons. *Fac. Pharm.* Paris N° 12.345. Masson éditeur Paris 1875.
- PAGÈS. — Thèse Doctorat en Méd. Recherche sur la pexine Paris 1888.
- PARMENTIER et DEYEUX. — Précis d'expériences et observations sur les différentes espèces de lait. 1798-1799.

- PASSERINI. — Sulla presenza di fermenti zimici ossidanti nelle piante fanerogame. — Bollettino dell' istituto agrario di Seandicci, p. 3, 1900.
- PAYEN. — *Lieb. Ann.*, **60**, 286.
- PECKOLT. — Sitzungsber. d. K. Academ. de Wien, 54, p. 462.
- PELLERIN G. — Guide de l'expert chimiste en denrées alimentaires. 3^e édit., Paris 1928, Maloine éd. p. 171, etc..
- PELTRISOT. — Feuilles de belladone, datura, jusquiame. Caractères de diagnose microscopique. *Bull. Sc. Pharm.* 1907, **14**, p. 569-575 et pl. IX-X.
- PERKIN et YOSHITAKE. — *J. Chem. Soc.* London, 1902, **81**, 1160.
- PERROT Em. — Les bois du Gabon. *Bull. Sc. Pharm. Fac. Pharm. de Paris*. II p. 226-228.
Bois de la Côte d'Ivoire. *Bull. Soc. Chim.*, II, p. 226.
- PERROT Em. et GENTIL L. — Sur les productions végétales du Maroc. Rapport de Mission, Paris. Notice n° 10 de l'Office National des Matières premières végétales. 1921, p. 98-163.
- PERROT et GORIS A. — Sur la composition chimique des noix de kola. *Bull. Sc. Pharm.*, 1907, **14**, p. 576-593.
Essai d'une terminologie des corps désignés généralement sous le nom de tanins. *Bull. Sc. Pharm.*, 1909, **16**, p. 189.
- PFÄFF-SCHWEIGGERS. — *J. prat. Chimie*, **61**, 487.
- PETERS. — Untersuch. über das Lab und die Labähnl. Fermenten. Dissert. Rostock, 1894.
- POLSTOIFF. — Ueber das Vorkommen von Betainen und von Cholin in Coffein und Theobromin enthaltenden Drogen. Festschrift Otto Wallach Göttingen, 1909, 569-578.
- POWER et FREDERICK B. — Chemistry of the bark of Robinia pseudoacacia. *Pharm. Journ.*, (4) 1901, **13**, p. 258.
Analyse in *J. de Ph. et Ch.*, (6) 1901, **14**, p. 413.
- RABAK Frank. — The utilisation of waste tomato seeds and skins. *Chem. News*, 1918, **117**, p. 100-104.
- ROBIQUET et BOUTRON. — *Ann. de Physique et Chimie*, **23**, 93.
- ROCHELEDER. — *Lieb. Ann.*, **50**, 224, 59, 300. — *Lieb. Ann.* **63**, 202. — *Lieb. Ann.*, **66**, p. 35.
- ROMEO Giovanni. — Sulla formulla greggia e sulle proprietà della solanina. *Gazz. chim. ital.*, 1905, 35, **2**, p. 579-589; Id. *RENDICONTI Soc. chim. di Roma*, 1905, **3**, p. 119-121.
Riposta a una nota dei sigg. Oddo e Colombano. *Rendiconti Soc. chim. di Roma*, 1905, **3**, p. 156-159.

- ROSETTI Emilio. — Cynarase, das Koagulierende Enzym der *Cynara Cardunculus* (Artischocke). *Chem. Centralblatt*, 1899, **1**, p. 131. Art. orig. : l'Orosi, 1898, **21**, p. 289.
- RUNGE. — Pytochem. Entdeckungen, 1820, 144.
- RUZICKA L. et VAN VEEN A. G. — *Beitrag zur Kenntnis der Zusammenhänge zwischen den Saponinen, höheren Terpenverbindungen und Sterinen. Zeitschr. für physiol. chem.*, 1929, **184**, p. 69-82.
- Sapindus (étude du). — *Bull. Sc. Pharm.*, **1**, 652. — *Bull. Sc. Pharm.*, **18**, 249.
- Sapogenine (étude de la). — *Bull. Sc. Pharm.*, **33**, 339.
- SCHEER. — *Arch. der. Pharm.*, 228, p. 274.
- SCHMIDT. — *Lieb. Ann.*, **217**, p. 306.
- SCHWEITZER. — *Pharm. Zeit.* 1898, 389.
- SIEBURG. — Isolierung, Nachweis und Abbaustudien auf dem gebiete der Saponine, in : Abderhalden E. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, **1**, 10^e partie, 1923, p. 545-584.
- SOUÈGES R. — Développement et structure du tégument séminal chez les solanacées. Thèse Doc. Sc. nat. et Ann. des Sc. Nat. Botanique Paris 1907.
- STENHOUSE W. — *Lieb. Ann.* **45**, p. 366 ; **46**, p. 227. *Dingl. Journ.*, **156**, p. 150.
- SWANBERG. — *Pogg. Ann.*, **39**, p. 161.
- TAILLANDIER M. — Techniques de précipitation colloïdale. *J. Pharm. et Ch.* 1927, Sér. 8, p. 465.
- TCHITIBABINE A. — Chimie org. Hermann édit. 3.
- THUNBERG C. P. — *Solana capensia, iconibus et descriptionibus illustrata.* 1817, p. 39-41.
- TSUFIMURA. — Sc. pap. Inst. phys. and Chemie. Res. Tokyo, 1929, **10**, 253 ; 1930, **14**, 63.
- VAN DER HAAR (AW.). — Untersuchungen in der Familie der Araliaceae, speziell über die Glukoside und Oxydasen. Thèse Berne 1913.
- Les saponines des noyaux de fruits de *Pseudophoenix vinifera* Beccari. *Rec. Trav. chim. Pays-Bas*, 1921, **40**, p. 542-552.
- Saponine aus der blättern von *Aralia montana* Bl. Ber. d. d. chem. Ges., 1922, **55**, III, p. 3041-3069.
- Untersuchungen über die Saponine und verwandte Körper. *Rec. Trav. chim. Pays-Bas*, 1927, **46**, p. 793-798.
- VERKADE P. E. et COOPS junior. — Das Vorkommen von unpaaren Fettsäuren in natürlichen Fette, Ölen und Waschen *Biochem. Zeitschr.*, 1929, **206**, p. 468-481.
- VLAANDEREN et MULDER. — *Jahresber. üb. Chem.*, 1858, **261**.
- VON RUPPE. — Matière col. vég., p. 30-65 j.
- WAAGE (Th.). — Ueber das Vorkommen saponinartiger Stoffe im Pflanzenreiche. *Pharm. Centralb.*, 1892, **33**, p. 712.

- WALPERS (G. G.). — Repertorium botanices systematicae. Lipsiae 1844-1845, **3**, p. 82-83.
- WASICKY (Richard). — Lehrbuch der Physiopharmakognosie für Pharmazeuten. (2 vol. Wien und Leipzig, 1929-1932, **2**, p. 379-408.
- WEDEKIND (E.) et SCHICKE (W.). — Ueber Githagenin und Githaginsäure. *Zeitschr. für physiol. Chem.*, 1929, **182**, p. 72-81.
- WEFFEN. — *Arch. Pharm.*, **205**, p. 9.
- WEITZ (R.). — Les Lycium européens et exotiques. Thèse Doct. Méd. Paris 1922, p. 82-109.
- WETTSTEIN (R. VON). — Solanaceae, in Engler (A) et Prantl (K). Die natürlichen Pflanzenfamilien, **4**, 3, b. Leipzig 1895, p. 23.
- WHEELER. — *Xylose. Ann. der chem.*, **254**, p. 309.
- WHELDAL. — The anthocyanin. Cambridge 1916.
- WINDAUS (A.). — Ueber die Entgiftung der Saponine durch Cholesterin. *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1909, **42**, p. 238-246.
- Abbau und Aufbauversuche in Gebiete der Sterine.
- Abderhalden's Handbuch Biolog. Arbeitsmethoden, 1922, **1**, part. 6, p. 169-210.
- WINTERSTEIN (A.) et STEIN (Gertrud). — Katalytische Hydrierung der doppelbindung im Hederagenin. *Zeitschr. für physiol. Chem.*, 1931, **199**, p. 75-80.
- WINTERSTEIN (Ernst) et TRIER (Georg.). — Die Alkaloide. 3^e édit. Berlin, 1931, p. 776.
- WOSKRESSENSKY. — *Lieb. Ann.*, 1842, **41**, p. 125.
- WYROUBOFF (G.). — Manuel prat. de cristallogr. Gauthier et Villars édit.
- WURTZ. — Sur la papaine. — Contribution à l'histoire des ferments solubles. *C. R. Ac. Sc.*, 1880, **90**, p. 1379.
- WURTZ et BOUCHUT. — Sur le ferment digestif du Carica Papaya *C. R. Ac. Sc.*, 1879, **39**, p. 425.
- ZEISEE (S.) et WITTMANN (J.). — Zur Kenntnis des Solanins. *Ber. d. d. chem. Ges.*, 1903, 36, **3**, p. 3554-3558.
- ZWENGER (C) et KIND (A.). — Ueber Solanin. *Ann. der Chem. und Pharm.*, 1859, **109**, p. 244-247.
- Ueber das Solanin, und dessen Spaltungs-producte. *Ann. der Chem. und Pharm.*, 1861, **113**, p. 129-151.
- ZWENGER et SIEBERT. — *Lieb. Ann. Supl.* **1**, 77.
-

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
Introduction	5
CHAPITRE I. — Etude botanique de la plante	9
Origine botanique	9
Place de la plante dans la classification.....	10
Géographie botanique	11
Morphologie	12
Histologie	12
CHAPITRE II. — Le latex, extraction, usages	13
Notions empiriques	13
CHAPITRE III	16
1° Caractères généraux des Saponines	16
Propriétés générales communes	16
Classification des Saponines	17
Préparation et séparation	22
Rapports des Saponines et des sucres.....	24
Rapports entre Saponines et Terpènes.....	27
Propriétés physiques	30
Propriétés physiologiques	31
2° Catéchines	33
Notions générales. Caractères	33
Plantes à catéchines	34
Catéchines, catéchols et leurs dérivés colorés.	38
Tannins catéchiques	40
CHAPITRE IV. — Etude expérimentale physique et chimique du latex	42
1° Caractères physiques	43
2° Analyse chimique	45
1° <i>Extraction des hétérosides saponiniques</i>	47
Caractérisation du produit extrait	49

Essai physiologique	50
Essais chimiques	50
Caractérisation des glucosides et dosage des sucres	56
2° <i>Extraction et étude de la matière rouge (catéchine)</i>	60
Caractères physiques	61
Caractères chimiques	61
Analyse par fusion alcaline	62
<i>Formule centésimale</i>	68
Préparation des éthers	68
Méthylation et réduction du produit isolé..	68
Extraction des corps contenus dans les eaux-mères de cristallisation	72
<i>Formule de constitution et nomenclature</i>	74
Conclusion sur l'étude de la structure chimique des produits phénoliques isolés....	85
Propriétés physiques et chimiques des corps préparés	87
3° Ferments du latex. Recherches et caractérisations. ..	88
1° <i>Recherches sur les oxydases et les peroxydiastases</i>	88
2° <i>Recherche et caractérisation des protéases et du lab-ferment</i>	90
Etude de la réaction de coagulation.....	91
Etude du lab-ferment et de ses conditions optima de réaction	92
3° <i>Etude des protéases agissant dans un milieu neutre et alcalin</i>	95
4° <i>Recherches des protéases actives en milieu acide</i>	96
 CHAPITRE V. — Essais physiologiques et bactériologiques des composés retirés du latex ...	 99
Conclusion	101
Bibliographie	107

DEUXIÈME THÈSE.

Propositions données par la Faculté :

LES FLAVINES
ET LEUR RÔLE PHYSIOLOGIQUE

Vu et approuvé :

Paris, le 7 décembre 1938.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Ch. MAURAIN.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

G. ROUSSY.

IMPRIMERIE DECLUME

55, Rue du Commerce, 55

== LONS-LE-SAUNIER
